



Universidad del País Vasco  
Euskal Herriko Unibertsitatea

KIMIKA FAKULTATEA  
FACULTAD DE QUÍMICA

# **Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea**

## **Facultad de Química/Kimika Fakultatea**

### ***Grado en Química***

TRABAJO FIN DE GRADO

Complejos de Hierro (III) porfirina como catalizadores para la reducción de cetonas con importancia metabólica

**Autor:** Mikel Gabino García

**Dirigido por:** Carlos Sánchez-Cano y Eider San Sebastián

Donostia-San Sebastián, septiembre de 2023

**GIPUZKOAKO CAMPUSA**  
CAMPUS DE GIPUZKOA  
Pº. Manuel de Lardizabal, 3  
20018 DONOSTIA-SAN SEBASTIAN  
GIPUZKOA

# ÍNDICE

|   |     |
|---|-----|
| RESUMEN .....   | III |
| ABSTRACT .....  | III |
| ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS .....  | IV  |
| 1. INTRODUCCIÓN.....  | 1   |
| 1.1. COMPUESTOS ORGANOMETÁLICOS COMO FÁRMACOS.....  | 1   |
| 1.2. TRANSFERENCIA DE HIDRÓGENOS .....  | 2   |
| 1.2.1. MECANISMOS DE REACCIÓN EN PROCESOS DE HT .....   | 3   |
| 1.2.2. REDUCCIÓN CATALÍTICA DE CETONAS: APLICACIONES EN PROCESOS DE REGULACIÓN METÁBOLICA.....  | 6   |
| 1.3. CATALIZADORES METÁLICOS EN MEDIO BIOLÓGICO .....   | 11  |
| 1.4. ANTECEDENTES .....   | 12  |
| 1.5. OBJETIVOS.....   | 17  |
| 2. PARTE EXPERIMENTAL .....   | 18  |
| 2.1. MATERIALES .....   | 18  |
| 2.2. MÉTODOS.....   | 18  |
| 2.3. SÍNTESIS DE LIGANDOS: .....  | 19  |
| 2.3.1. SÍNTESIS 1:.....   | 19  |
| 2.3.2. SÍNTESIS 2:.....   | 20  |
| 2.3.3. SÍNTESIS 3:.....   | 21  |
| 2.3.4. SÍNTESIS 4.....  | 23  |
| 2.3.5. SÍNTESIS 5.....  | 24  |
| 2.4. CARACTERIZACIÓN DE LIGANDOS.....   | 25  |
| 2.5. SÍNTESIS DE COMPLEJOS.....   | 26  |
| 2.6. CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS .....   | 28  |
| 2.7. PROCEDIMIENTOS DE CATÁLISIS.....   | 29  |
| 2.7.1. PROCEDIMIENTO 1.....   | 29  |
| 2.7.2. PROCEDIMIENTO 2.....   | 30  |
| 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....   | 31  |
| 3.1. LIGANDOS .....   | 31  |
| 3.1.1. TPP ( <b>3e</b> ) Y 4Br-TPP ( <b>3a</b> ) (TETRASUSTITUIDOS) .....                       | 31  |
| 3.1.2. 1Br-TPP ( <b>3d</b> ), 2Br-TPP ( <b>3c</b> ) y 3Br-TPP ( <b>3b</b> ) (INTERMEDIOS) ..... | 34  |

|        |                              |    |
|--------|------------------------------|----|
| 3.1.3. | CARACTERIZACIÓN.....         | 39 |
| 3.2.   | COMPLEJOS.....               | 43 |
| 3.2.1. | METODOLOGÍA SINTÉTICA.....   | 43 |
| 3.2.2. | SEGUIMIENTO POR UV-VIS ..... | 44 |
| 3.2.3. | CARACTERIZACIÓN.....         | 46 |
| 3.3.   | CATÁLISIS .....              | 52 |
| 5.     | CONCLUSIONES.....            | 54 |
| 5.     | CONCLUSIONS.....             | 55 |
| 6.     | BIBLIOGRAFÍA.....            | 56 |

## **RESUMEN**

El descubrimiento de la aplicación de compuestos organometálicos como agentes terapéuticos ha aumentado el interés en el diseño de nuevos catalizadores intracelulares. Sin embargo, la aplicación intracelular de estos catalizadores tiene numerosas limitaciones. En este trabajo se proponen estrategias para solventar estas limitaciones. Para ello, se han sintetizado complejos de Fe(III) partiendo de ligandos tipo porfirina, además de análogos bromados de los mismos. Se ha analizado el efecto de los sustituyentes Br en la actividad catalítica de reducción de acetofenona por transferencia de hidrógenos en medio orgánico e inerte. Finalmente se ha concluido que esta sustitución no altera la capacidad catalítica de los complejos tipo porfirina ya descritos anteriormente. Por lo tanto, estos catalizadores pueden ser una futura opción para su aplicación como agente terapéutico para patologías como la hipercolesterolemia y la hiperglucemia mediante la reducción de cetonas intracelulares. Sin embargo, sería necesario comprobar esta actividad catalítica en medios fisiológicos antes de su aplicación intracelular.

## **ABSTRACT**

The discovery of the uses of organometallic compounds as therapeutic agents has increased interest in the design of new intracellular catalysts. However, the intracellular application of these catalysts has plenty of limitations. In this work, strategies to overcome these limitations are proposed. For this purpose, Fe(III) complexes have been synthesised from porphyrin-type ligands, as well as brominated analogues of these ligands. The effect of Br substituents on the catalytic activity of acetophenone reduction by hydrogen transfer in organic and inert media has been analysed. Finally, it has been concluded that this substitution does not alter the catalytic capacity of the porphyrin-type complexes described above. Therefore, these catalysts may be a future option for their application as therapeutic agents for pathologies such as hypercholesterolemia and hyperglycemia through the reduction of intracellular ketones. However, it would be necessary to test this catalytic activity in biologically relevant conditions before its intracellular application.

## ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| <b>ADN</b>                  | Ácido desoxirribonucleico  |
| <b>AHT</b>                  | Hidrogenación asimétrica por transferencia de H                                    |
| <b>CoA</b>                  | Coenzima A   |
| <b>DCM</b>                  | Diclorometano  |
| <b>DMF</b>                  | N,N-dimetilformamida   |
| <b>FRX</b>                  | Fluorescencia de Rayos X   |
| <b>GSH</b>                  | Glutación en su estado reducido  |
| <b>HDL</b>                  | Lipoproteína de alta densidad  |
| <b>HOMO</b>                 | orbital molecular ocupado de más energía   |
| <b>HT</b>                   | Hidrogenación por transferencia de H   |
| <b>ICP-MS</b>               | Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente                         |
| <b>iPrOH</b>                | Isopropanol  |
| <b>LMCT</b>                 | Transferencia de Carga ligando-metal   |
| <b>LUMO</b>                 | orbital molecular no ocupado de más baja energía                                   |
| <b>MeOH</b>                 | Metanol  |
| <b>MW</b>                   | Microondas   |
| <b>NAD<sup>+</sup>/NADH</b> | Dinucleótido de nicotinamida y adenina (forma oxidada y reducida, respectivamente) |
| <b>RMN</b>                  | Resonancia Magnética Nuclear   |
| <b>RT</b>                   | Temperatura ambiente   |
| <b>TLC</b>                  | Cromatografía en capa fina   |
| <b>TOF</b>                  | Frecuencia de recambio   |
| <b>TON</b>                  | Número de recambio   |
| <b>TPP</b>                  | Tetrafenilporfirina  |
| <b>UV-Vis</b>               | Ultravioleta-visible   |

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. COMPUESTOS ORGANOMETÁLICOS COMO FÁRMACOS

Desde el descubrimiento del cisplatino y otros complejos de platino y su comercialización como agentes quimioterapéuticos contra el cáncer, el interés en el desarrollo de complejos metálicos y su aplicación como fármacos ha ido en aumento. Estos compuestos ofrecen una gran variedad de propiedades y funciones que se pueden controlar según el centro metálico y las características de los ligandos, permitiendo una gran afinidad por las moléculas sobre las que se actúa<sup>1</sup>. Por ejemplo, los mencionados cisplatino y el carboplatino tienen una gran afinidad por las moléculas de ADN, y al unirse a ellas inhiben los mecanismos de replicación y transcripción de ADN, provocando la muerte celular en células cancerosas<sup>2</sup>. También se han desarrollado complejos de rutenio (RAPTA) y de oro (auranofina), que se unen específicamente a residuos de ciertas enzimas para inhibir su actividad<sup>3</sup>. En la Figura 1 se muestran las estructuras de los compuestos mencionados.

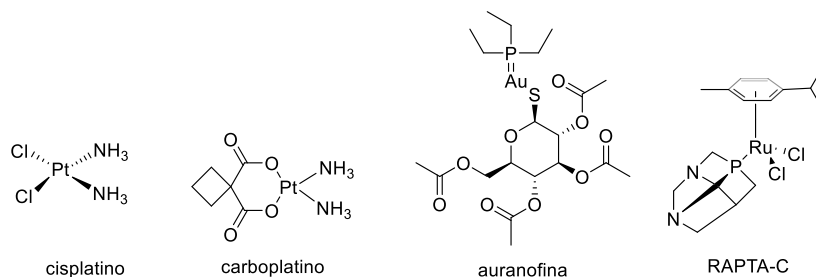


Figura 1. Complejos terapéuticos estequiométricos

Sin embargo, este tipo de complejos presenta un gran inconveniente, y es que al interactuar con la biomolécula diana, el complejo se consume y no actúa sobre más unidades de la biomolécula en cuestión (reacciones estequiométricas); esto hace necesario la administración de altas concentraciones de estos compuestos para producir el efecto deseado, lo que resulta en una alta toxicidad para el organismo debido a varios factores: la acumulación del metal, en general no biocompatible, y la competencia por la biomolécula diana, con otros sustratos

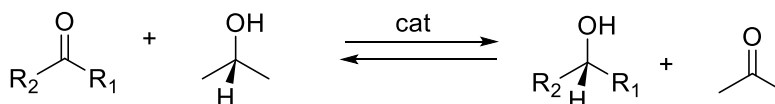
naturales de la misma, pudiendo producirse reacciones secundarias no deseadas, dando lugar a cantidad de efectos adversos<sup>4</sup>.

Con el objetivo de solventar estos problemas, surgió una línea de investigación basada en el desarrollo de complejos organometálicos capaces de llevar a cabo procesos catalíticos en sistemas biológicos. A diferencia de los complejos que intervienen en procesos estequiométricos, los catalizadores pueden realizar la misma transformación varias veces en varias moléculas objetivo antes de desactivarse. Esto permite la administración de dosis más bajas con la efectividad deseada, lo que reduce la toxicidad y los efectos adversos antes mencionados<sup>5</sup>. Además, los catalizadores permiten una mayor especificidad en cuanto al sitio en el que actúan, ya que se puede controlar su activación<sup>4,6</sup>.

Especialmente en los últimos 20 años, se han desarrollado catalizadores metálicos de diferentes reacciones intracelulares (*in vitro*) y en organismos (*in vivo*): se han utilizado compuestos de Ru, Rh, Pd, Au, Ir, Cu, Os y Fe capaces de catalizar diferentes reacciones de transformación de biomoléculas, tales como la oxidación de tioles y NADH, reducción de azidas, saturación de lípidos y desprotección de aminoácidos, entre otros<sup>4</sup>. Este estudio se centra en complejos que catalizan reacciones de reducción de cetonas por transferencia de hidrógeno (HT).

## 1.2. TRANSFERENCIA DE HIDRÓGENOS

Las reacciones de HT se definen como reacciones de reducción de enlaces múltiples promovidas por un catalizador con ayuda de una fuente de hidrógeno (donante), y que transcurren mediante un intermediario M-H<sup>7</sup>. En particular, el presente trabajo se centra en la hidrogenación de cetonas para obtener alcoholes, cuya reacción general se muestra en el Esquema 1.



Esquema 1. Reducción de cetonas por transferencia de hidrogeno con isopropanol como fuente de H

El descubrimiento en los años 60 y 70 de la capacidad de algunos complejos organometálicos de Ru e Ir de catalizar la transferencia de hidrógeno en cetonas sentó las bases del desarrollo de este tipo de catalizadores en química orgánica sintética<sup>7</sup>. El avance más significativo se produjo en 1995, cuando Noyori y colaboradores desarrollaron complejos organometálicos de Ru(II) (ejemplo en Figura 2) con ligandos quirales capaces de reducir cetonas con una gran enantioselectividad ( $ee > 99\%$ ) dependiendo del enantiómero utilizado<sup>8</sup>. A raíz de este descubrimiento, se han reportado gran cantidad de complejos organometálicos de Ru, Ir, Rh y, en menor medida, de Fe, capaces de catalizar la reducción de gran cantidad de cetonas diferentes de manera muy eficiente en condiciones optimizadas y con una gran enantioselectividad, y han supuesto grandes avances en el campo de la química sintética industrial. En este sentido, la reacción de transferencia de hidrógenos asimétrica (AHT) con catalizadores de metales de transición ha demostrado ser uno de los métodos más eficientes para la reducción enantioselectiva de muchas sustancias insaturadas en la producción de alcoholes enantiopuros<sup>9</sup>.

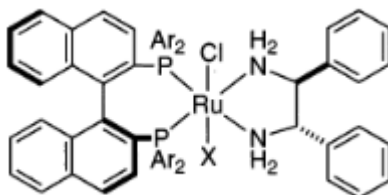


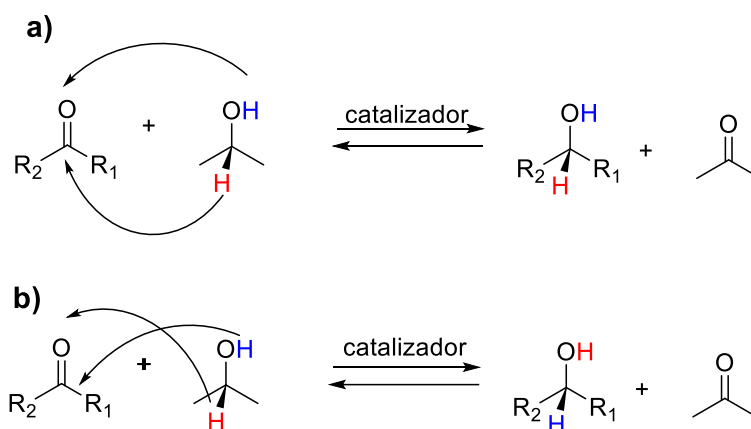
Figura 2. Catalizador de Noyori típico

### 1.2.1. MECANISMOS DE REACCIÓN EN PROCESOS DE HT

En la hidrogenación de cetonas, el agente reductor es la especie donante de hidrógenos. Este contiene dos hidrógenos que, activados por un catalizador y en condiciones adecuadas, pueden transferirse a un carbonilo, en forma de hidruro al carbono y en forma de protón al oxígeno<sup>10</sup>. Los compuestos más utilizados como donantes de hidrógeno son las especies 2-propanol, el ácido fórmico y sus sales.



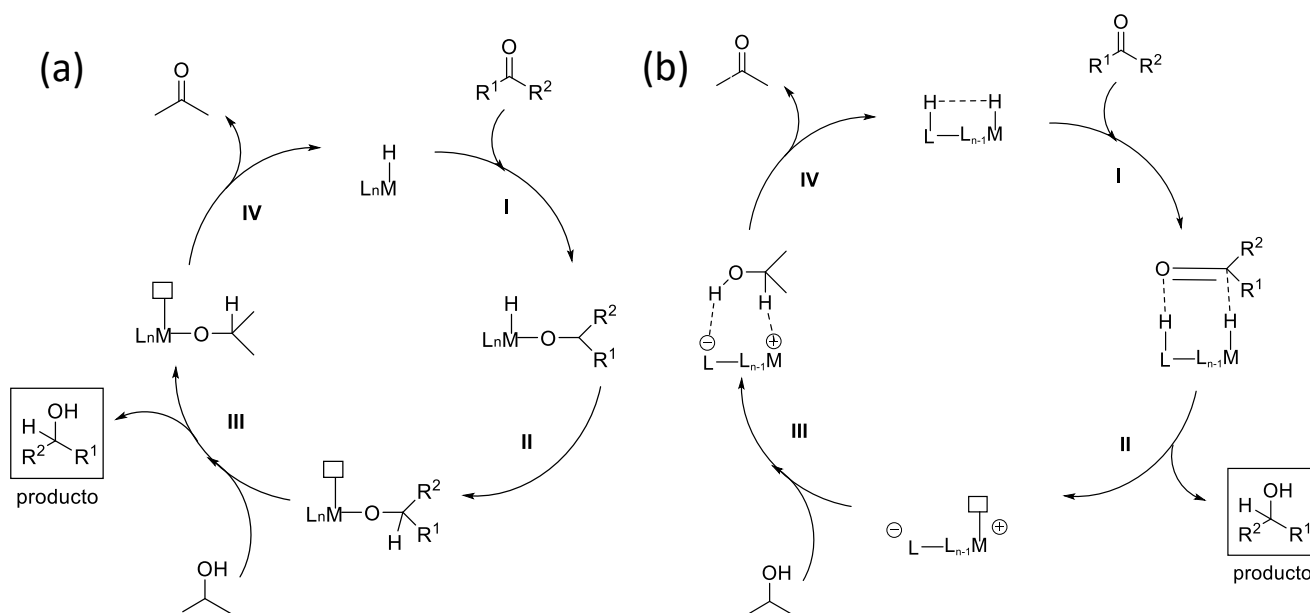
En las hidrogenaciones de cetonas en las que los catalizadores contienen metales de transición, el donante de H y el aceptor o sustrato interactúan por separado con el metal en diferentes etapas del ciclo catalítico. Se han descrito dos rutas generales para la reducción de cetonas por transferencia de hidrógenos, mostradas en el Esquema 2: la primera (y de la que menos reportes se conocen hoy en día) es la ruta dihídrica, en la que los H del donante pierden su identidad tras enlazarse al metal y se transfieren a posiciones aleatorias del sustrato (Esquema 2a y 2b). En la segunda ruta, la monohídrica, el hidrógeno alifático (C-H) del donante se mantiene como un hidruro durante todo el proceso, mientras que el hidrógeno del grupo hidroxilo (O-H) se mantiene como protón (Esquema 2a)<sup>7,10</sup>.



**Esquema 2. Mecanismos alternativos para la transferencia de los hidrógenos en reacciones de reducción de cetonas.**

Generalmente, en la ruta monohídrica la activación del catalizador ocurre por coordinación del donante con el metal, que le transfiere un H para generar el intermediario metal-hidruro y liberar una cetona (donante deshidrogenado)<sup>10,11</sup>. Además, en función del tipo de interacción catalizador-sustrato por la que se da la transferencia, se han propuesto dos posibles mecanismos: de esfera interna y de esfera externa. El primero en proponerse fue el mecanismo de esfera interna (Esquema 3a), en el que el sustrato se coordina al metal (I) dando lugar a un intermediario alcóxido y seguidamente ocurre una inserción del hidruro en la posición β del carbonilo (II). En el siguiente paso, (III) una nueva molécula de donante (isopropanol en este caso) desplaza el alcóxido coordinado por protonación, liberando el producto reducido. Finalmente, el alcóxido resultante sufre una eliminación de H-β (IV), liberándose como acetona; el intermediario metal-hidruro es así recuperado, reiniciando el ciclo<sup>10,12</sup>.

En el mecanismo de esfera externa (Esquema 3b), no se requiere la entrada del donante ni del aceptor en la esfera de coordinación del metal para que ocurra la transferencia de hidrógenos<sup>10</sup>. El sustrato interactúa por medio de interacciones entre el enlace doble polar del carbonilo y el hidruro y el protón del complejo (I). Ambos hidrógenos son transferidos simultáneamente al carbonilo (II), liberando el producto hidrogenado. A continuación (III), el donante de protones interactúa con el complejo mediante enlaces no covalentes, transfiriendo un protón al ligando y un hidruro al metal (etapa concertada)<sup>10,12</sup>. En este mecanismo, el ligando y el metal actúan conjuntamente, activando el sustrato a través de enlaces no covalentes (esto requiere que el ligando contenga un grupo funcional cercano al metal que pueda aceptar un hidrógeno y sea capaz de transferirlo)<sup>10</sup>. Esto se conoce como bifuncionalidad ligando-metal<sup>7</sup>.



Esquema 3. Mecanismo de esfera interna (a) y externa (b) de hidrogenación de cetonas

### 1.2.2. REDUCCIÓN CATALÍTICA DE CETONAS: APLICACIONES EN PROCESOS DE REGULACIÓN METÁBOLICA

En 1986, el grupo de Shvo y colaboradores desarrolló un pro-catalizador dinuclear de Ru con ligandos tipo ciclopentadienona, que se disocia a las formas activas  $[\text{Cp}^*\text{Ru}(\text{CO})_2]$  (Figura 3) y actúan por un mecanismo de esfera externa reduciendo carbonilos, aldehídos e iminas en medio acuoso y utilizando formiato como fuente de  $\text{H}^{13}$ . Así, por primera vez, se demostró que la transferencia de hidrógenos era factible también en medio acuoso, y no únicamente en entornos orgánicos, como hasta la fecha.

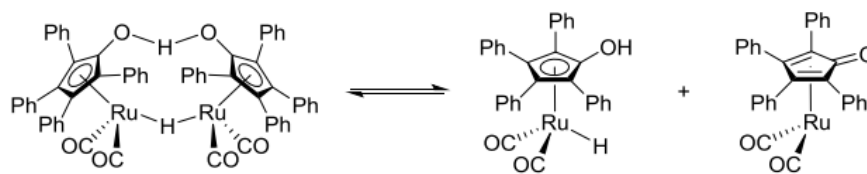
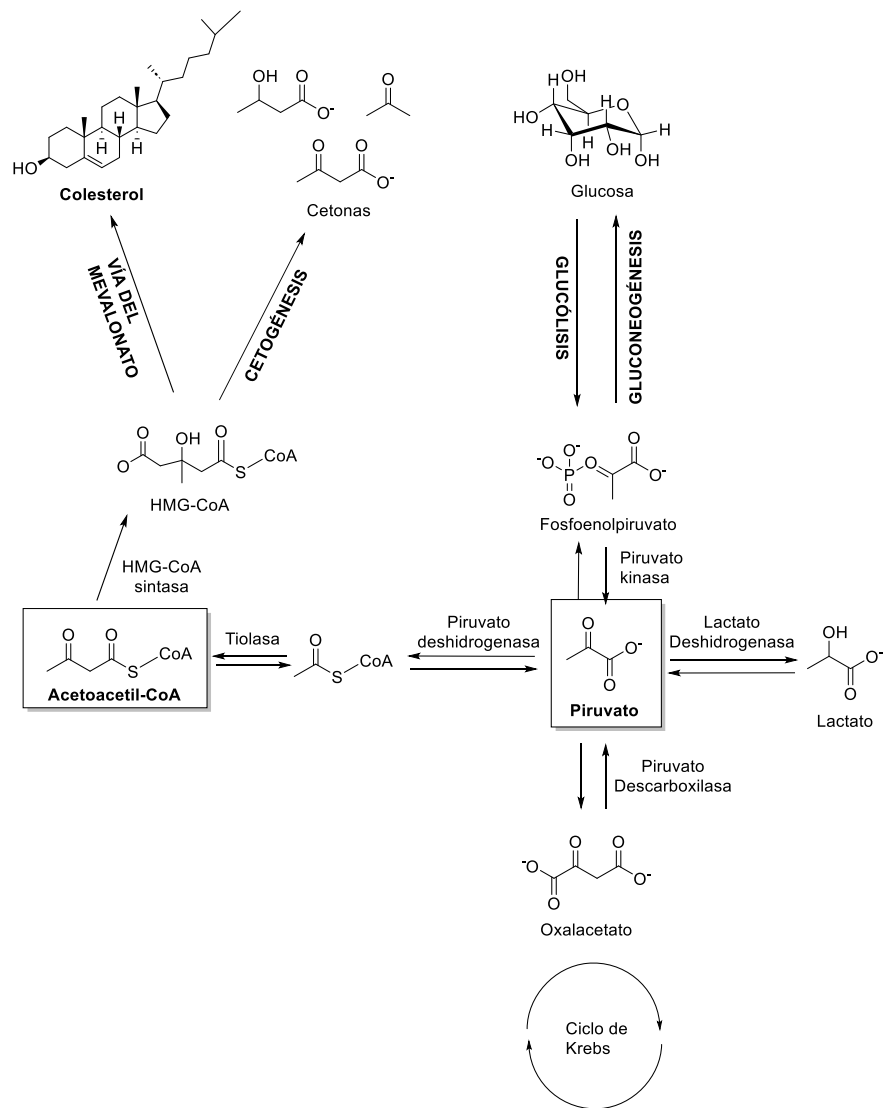


Figura 3. Activación de catalizadores de Shvo

Este descubrimiento abrió las puertas para la aplicación de estas reacciones de catálisis en sistemas biológicos, ya que, además, muchas de las vías metabólicas en los seres vivos transcurren mediante reacciones de transferencia de hidrógenos, catalizadas por medio de enzimas. Existen varias enzimas endógenas que catalizan reacciones de reducción de carbonilos por transferencia de hidrógenos en el organismo (isocitrato deshidrogenasa, malato deshidrogenasa...). La fuente de H en la mayoría de ellas es el cofactor denominado dinucleótido de nicotina y adenina, abreviada como NADH en su forma reducida (y  $\text{NAD}^+$  en su forma oxidada)<sup>14</sup>. El NADH se forma en el ciclo de Krebs por reducción del  $\text{NAD}^+$ , que precisamente es una transferencia de hidrógeno catalítica. Esta molécula es el agente reductor principal del organismo, y la proporción  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  mantiene el equilibrio redox del que dependen una gran cantidad de procesos celulares de metabolismo y desarrollo<sup>15</sup>.

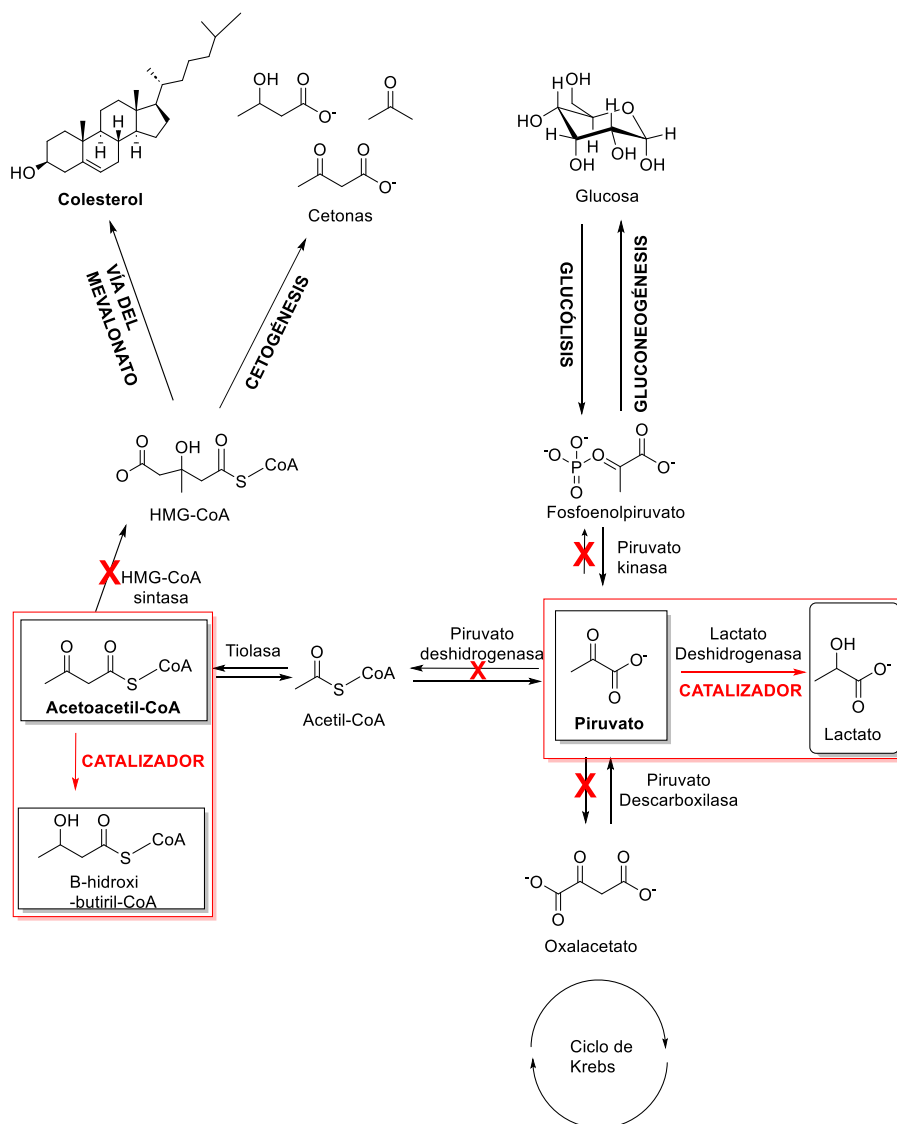
Las reacciones enzimáticas de reducción de cetonas de mayor importancia para el desarrollo de potenciales agentes terapéuticos son las que contienen las cetonas piruvato y acetoacetyl-CoA como sustratos. El piruvato es crucial en la regulación de varias vías metabólicas: es el producto final de la glucólisis, en la que se rompe una molécula de glucosa para formar dos de piruvato. Esta reacción es reversible, y se puede utilizar piruvato para generar glucosa por medio del proceso metabólico conocido como gluconeogénesis. Una vez formado, el piruvato actúa como precursor en el ciclo de Krebs, que forma parte de la respiración celular<sup>16</sup>. Por otro lado, la especie acetoacetyl-CoA es un precursor de la biosíntesis de colesterol (por la vía del mevalonato) y de la cetogénesis<sup>17</sup>. La cetogénesis es la descomposición de grasas a cetonas utilizada por el metabolismo como método alternativo a la glucólisis para obtener energía, y que suele iniciarse cuando no hay reservas de glucosa en la célula debido a la falta de insulina<sup>18-20</sup>. En el Esquema 4 se muestran las reacciones metabólicas más relevantes en las que participan piruvato y acetoacetyl-CoA, junto con las vías que regulan.

Si se interviene en estas reacciones con un catalizador exógeno y se favorece la reducción de cetonas como piruvato o acetoacetyl-CoA, se puede disminuir la actividad de estas vías, disminuyendo por lo tanto la concentración de glucosa o colesterol en la sangre, respectivamente. Esto significa que estos catalizadores organometálicos podrían, en principio, ser utilizados como tratamiento para patologías relacionadas con las vías reguladas por estas moléculas, tales como la hipercolesterolemia<sup>21</sup> (exceso de colesterol en sangre por falta de transportadores HDL que los eliminen) o la hiperglucemia<sup>22</sup> (exceso de glucosa en sangre por falta de insulina), además de la cetoacidosis (complicación grave de la Diabetes tipo 1 causada por la acumulación de cetonas en sangre debida a la cetogénesis aumentada)<sup>19</sup>.



Esquema 4. Vías metabólicas reguladas por piruvato y acetoacetyl-CoA<sup>23</sup>

En el Esquema 5 se muestra la intervención metabólica que se cree que realizaría un catalizador de reducción de cetonas, en el que se ha marcado con flechas rojas las reacciones catalizadas y favorecidas y con cruces las reacciones inhibidas.



**Esquema 5. Intervención metabólica propuesta utilizando catalizadores de reducción de cetonas**

Por todo lo anterior, en la actualidad, se está investigando el desarrollo de catalizadores organometálicos capaces de catalizar la transferencia de hidrógenos en células y disminuir la actividad de estas vías metabólicas, favoreciendo la reducción de piruvato y acetoacetyl-CoA.

Uno de los mayores avances en este campo se dio en 1991, cuando Steckhan y colaboradores desarrollaron una serie de complejos de Rh con ligandos bipyridina capaces de regenerar NADH de manera regioselectiva en condiciones biológicamente relevantes (37°C, medio acuoso y pH 7) y utilizando formiato como fuente de H (en concentraciones no tóxicas para las células)<sup>24</sup>. Esto constituyó la primera estrategia para la regulación metabólica de piruvato; así, como se indica en

la Figura 4, al regenerar NADH por transferencia de hidrógenos desde NAD<sup>+</sup> con una fuente exógena de H se disminuye la gluconeogénesis (oxidación de piruvato que utiliza NAD<sup>+</sup> como cofactor). Además, se favorece la reducción a lactato (que utiliza NADH como cofactor), eliminando piruvato del medio e interviniendo en las vías mencionadas anteriormente<sup>4</sup>.

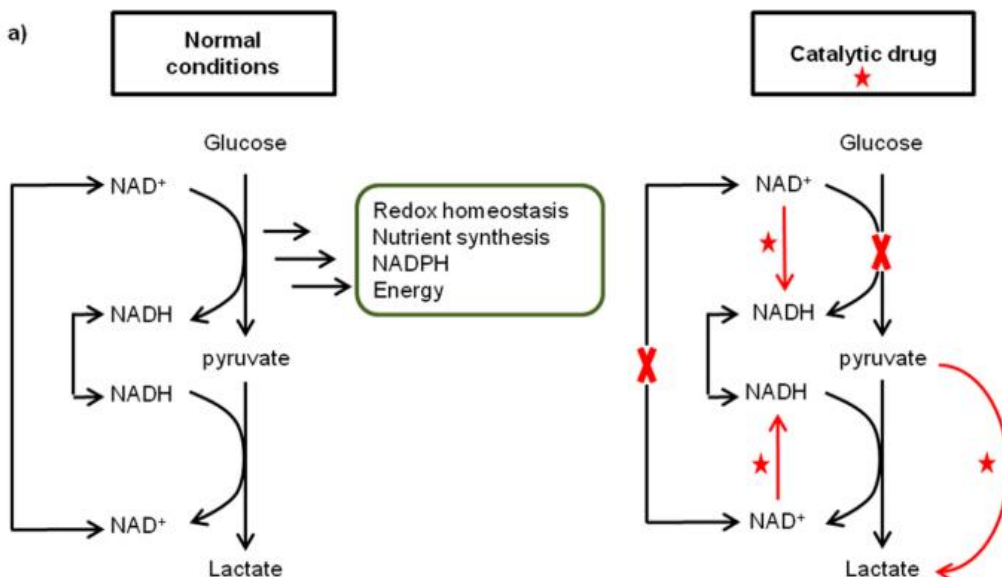


Figura 4. Estrategia de intervención metabólica por medio de regeneración del NADH<sup>4</sup>

En los últimos años, se han descrito análogos estructurales de complejos reportados anteriormente en condiciones optimizadas, evaluado su viabilidad en condiciones fisiológicas y, confirmado su actividad en entornos celulares<sup>4</sup>. Uno de los ejemplos más relevantes es el de Sadler y colaboradores, que en el año 2015 desarrollaron complejos de Rh(III) de tipo semi-sandwich con capacidad de catalizar la regeneración de NADH de manera intracelular<sup>25</sup>.

El mismo año, Coverdale et al. reportaron una serie de complejos de Os(II), análogos estructurales a los complejos de Ru(II) de Noyori, que demostraron ser más estables y más eficaces que estos últimos en la catálisis de la transferencia de hidrógenos asimétrica. En este estudio, los catalizadores sintetizados obtuvieron altas conversiones de diferentes cetonas con una gran enantioselectividad en medio orgánico<sup>26</sup>. Este descubrimiento llevó a este mismo grupo al estudio, en 2018, de la catálisis de reducción enantioselectiva de piruvato a lactato en entornos celulares con una muy alta selectividad y utilizando concentraciones no tóxicas de formiato como

fuente de H. Además, el compuesto demostró tener propiedades antiproliferativas, si bien el modo de acción de este es aún desconocido. Este estudio es el primer reporte que se conoce de la demostración de la posibilidad de catalizar la reducción enantioselectiva de piruvato a L-lactato natural o D-lactato no natural<sup>27</sup>.

Sin embargo, este campo de investigación se encuentra aún en una etapa muy temprana, ya que las catálisis intracelulares reportadas hasta la fecha se caracterizan por promover conversiones muy bajas y requerir cantidades de catalizadores muy grandes para ello. Por lo tanto, es necesario desarrollar nuevas estrategias para mejorar la reactividad de estos compuestos en ambientes biológicos<sup>28</sup>.

### **1.3. CATALIZADORES METÁLICOS EN MEDIO BIOLÓGICO**

Mientras que las condiciones de una reacción catalizada por metales en la síntesis de ciertos compuestos químicos están muy optimizadas con respecto a todos los parámetros como concentración, temperatura y disolvente, la situación es diferente para los complejos catalíticos intracelulares, que tienen que trabajar en un entorno complejo<sup>4</sup> con múltiples barreras, físicas y químicas que les impiden ejercer su función.

Por un lado, una vez dentro del organismo, tanto los catalizadores como los reactivos tienen que atravesar la membrana celular, que es una bicapa fosfolipídica con una parte hidrofílica en la superficie y una parte hidrofóbica en el interior. Esta membrana es impermeable a muchos compuestos, especialmente compuestos iónicos y compuestos hidrofílicos de gran tamaño, y es solo permeable a compuestos neutros pequeños. Por otro lado, una vez dentro del citosol, la reacción ha de poder catalizarse en las condiciones intracelulares, que consisten en un medio acuoso, aeróbico y que se encuentra a una temperatura aproximada de 37°C y a pH 7. Estas condiciones no son toleradas por la mayoría de complejos de metales de transición, que se degradan antes de poder catalizar ninguna reacción<sup>28</sup>. Además, estos catalizadores están expuestos a quelantes naturales y grandes concentraciones de nucleófilos como tioles y aminas, en particular el glutatión (GSH). Estas biomoléculas pueden desactivar o degradar los compuestos



metálicos y provocar su eliminación del organismo<sup>15</sup>. Esto puede causar también toxicidad en la célula, ya que se liberan iones metálicos no biocompatibles y ligandos que podrían resultar tóxicos<sup>29</sup>. Por último, las células contienen también una gran variedad de biomoléculas que pueden competir con el sustrato o incluso inhibir el catalizador<sup>28</sup>.

Por tanto, será de especial interés para el desarrollo de complejos organometálicos capaces de catalizar reacciones intracelulares, que éstos puedan incluir en su estructura y composición, no sólo el núcleo catalítico, sino los ligandos y/o grupos funcionales que les confieran estabilidad frente a las condiciones mencionadas.

#### **1.4. ANTECEDENTES**

Aunque se conocen, en términos generales, algunos de los factores que llegan a degradar y/o desactivar los catalizadores, se han reportado muy pocos trabajos en los que se estudien los mecanismos concretos por lo que esto ocurre. Si se investigan los procesos que llevan a la degradación/desactivación, se pueden desarrollar nuevas estrategias para poder contrarrestarlas<sup>29</sup>. Sin embargo, el análisis del estado del catalizador y su modo de entrada en la célula, así como la cuantificación del grado de catálisis constituyen un desafío para este campo ya que existen muy pocos métodos analíticos y cuantitativos para monitorizar procesos catalíticos en el interior celular, y en la mayoría de los casos es muy difícil evaluar la eficiencia de los complejos metálicos en catálisis intracelular<sup>15</sup>.

En este contexto, el grupo de Sadler desarrolló una nueva estrategia de marcaje con halógenos, que combinado con técnicas de fluorescencia de rayos X (FRX) y espectrometría de masa con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS, por sus siglas en inglés), permitió determinar la localización intracelular de los ligandos y, por tanto, la estabilidad intracelular de los catalizadores, además de los procesos de entrada y degradación dentro de la célula<sup>30</sup>. Esta estrategia se utilizó en los complejos quirales de Os análogos de los de Noyori reportados por este mismo grupo en 2018<sup>27</sup> (Figura 5). Tal y como se ha mencionado anteriormente, en este trabajo se demostró que podían catalizar la reducción de piruvato a L- o D- lactato dentro de

células. Sin embargo, como la mayoría de catalizadores intracelulares reportados anteriormente, mostraba una actividad catalítica pobre, lo que sugería la degradación y desactivación de los complejos dentro de las células.

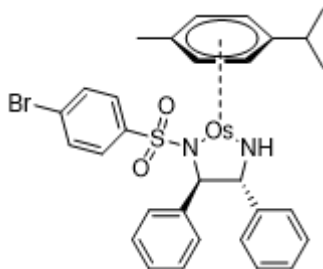


Figura 5. Complejo de Os(II) con marcaje de Br

Se sintetizaron análogos bromados de estos catalizadores, marcando con átomos de bromo posiciones inertes para la actividad catalítica, y demostrando que su reactividad y propiedades eran equivalentes a las de los complejos originales. Las imágenes obtenidas combinando ICP-MS y FRX basada en sincrotrón, permitieron el análisis de la distribución celular de los catalizadores y sus componentes<sup>30</sup>. Así, tal y como se ve en la Figura 6, se observan zonas de acumulación de ligando (Br) a la derecha y zonas de acumulación de metal a la izquierda y zonas de mayor concentración de ambos componentes, marcadas por círculos rojos. Estos últimos señalan la localización de altas concentraciones de complejo sin degradar, que podría tratarse de endosomas.

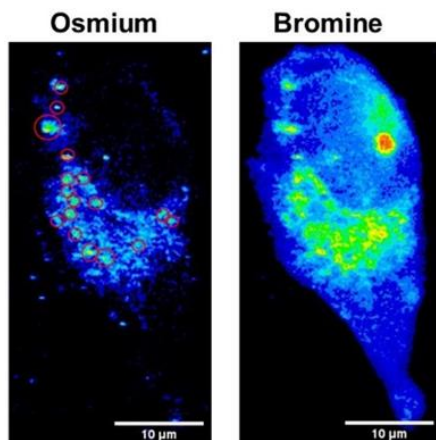


Figura 6. Mapas de FRX mostrando la distribución celular de ligandos-Br y centros metálicos-Os en células cancerosas tratadas con el catalizador bromado

De estos análisis se dedujo que el catalizador se internaliza por endocitosis, y se pudo determinar su mecanismo de degradación: es transportado a los lisosomas y degradado por las cisteínas que contienen. Los mecanismos de degradación, absorción y eflujo del catalizador propuestos se representan en la Figura 7. Estos resultados pueden guiar el diseño de nuevas generaciones de complejos, centrado en la modificación del mecanismo de absorción celular y el aumento de la estabilidad del complejo frente a tioles biológicos.

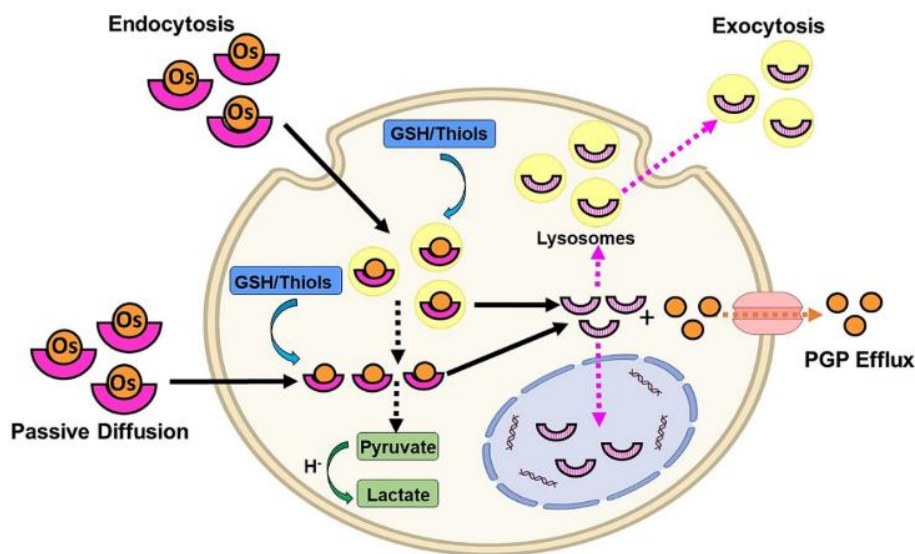


Figura 7. Propuesta de mecanismos celulares de degradación de los complejos<sup>30</sup>

Este aumento de la estabilidad de los complejos no sólo aumentará la eficacia catalítica de los mismos, sino que, además, evitará la liberación del metal al medio celular, que, por lo general, provoca toxicidad<sup>29</sup>. Una posible estrategia para evitar esto último, es utilizar complejos de cationes metálicos presentes en el organismo, tales como el Fe(III), para el que el organismo posee mecanismos de regulación y homeostasis. Al degradarse los complejos de Fe(III), el ion metálico puede ser procesado por la propia célula fácilmente mediante los mecanismos que ya utiliza para mantener la homeostasis del Fe<sup>31</sup>.

Siguiendo esta línea de desarrollo, en este trabajo se han sintetizado derivados bromados de catalizadores de Fe(III) tipo porfirina ya descritos en la bibliografía (ver Figura 8)<sup>32</sup>, que han demostrado capacidad de reducción de cetonas por transferencia de hidrógenos en síntesis orgánica<sup>32</sup>. También se ha reportado su uso en catálisis intracelular para la reducción de azidas<sup>33</sup>.

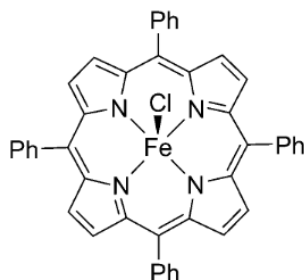
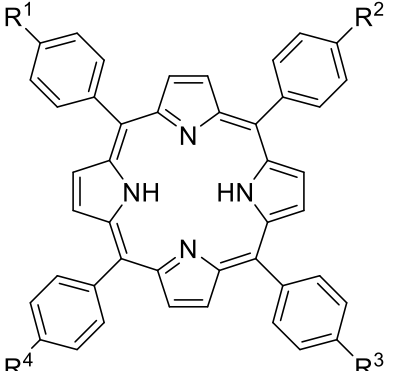
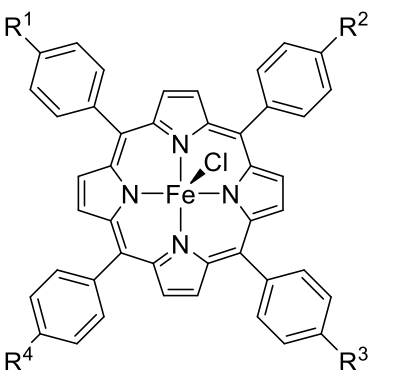


Figura 8. Catalizador intracelular tipo porfirina de Fe(III) utilizado en reducción de azidas<sup>33</sup>

En el presente trabajo de fin de grado, se han marcado con átomos de Br complejos de tipo porfirina (figura 8) de Fe(III), con el objetivo de determinar su estabilidad intracelular por las técnicas antes mencionadas en futuros estudios. Dicho marcaje deberá, además, no alterar la capacidad catalítica del derivado no halogenado. Por tanto, en este trabajo se evaluará el efecto de la sustitución de bromos en la capacidad catalítica y la estabilidad de estos complejos. Así, si se demuestra que la bromación no afecta a la actividad catalítica de los complejos, se usarán posteriormente en la reducción de piruvato o acetoacetyl-CoA para investigar sus posibles usos como agentes terapéuticos para la intervención metabólica.

Con todo lo anterior, los compuestos diseñados en este trabajo (Tabla 1) consisten en derivados bromados del catalizador de Fe(III) y porfirina mostrado en la Figura 8. Así, partiendo del ligando 5,10,15,20-tetrafenilporfirina (**TPP**), en este trabajo se han generado derivados sintéticos donde se han introducido grupos -Br en posición *para* de uno, dos, tres o los cuatro anillos fenilo, dando lugar a los ligandos 5-(4-bromofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**1Br-TPP**), 5,15-Bis-(4-bromofenil)-10,20-difenilporfirina (**2Br-TPP**), 5,10,15-Tris-(4-bromofenil)-20-fenilporfirina (**3Br-TPP**), y 5,10,15,20-tetrakis-(4-bromofenil)porfirina (**4Br-TPP**) y los complejos de Fe(III) correspondientes **Fe@TPP**, **Fe@1Br-TPP**, **Fe@2Br-TPP**, **Fe@3Br-TPP** y **Fe@4Br-TPP**.

Tabla 1. Ligandos y complejos organometálicos sintetizados en este trabajo.

| Estructura   | Código                                     | Código síntesis      |
|--|--|----------------------|
|   | R <sup>1,2,3,4</sup> =Br                   | 4Br-TPP <b>3a</b>    |
|  | R <sup>1</sup> = H; R <sup>2,3,4</sup> =Br | 3Br-TPP <b>3b</b>    |
|  | R <sup>1,3</sup> = H; R <sup>2,4</sup> =Br | 2Br-TPP <b>3c</b>    |
|  | R <sup>1,2,3</sup> = H; R <sup>4</sup> =Br | 1Br-TPP <b>3d</b>    |
|  | R <sup>1,2,3,4</sup> = H                   | TPP <b>3e</b>        |
|  | R <sup>1,2,3,4</sup> =Br                   | Fe@4Br-TPP <b>5a</b> |
|  | R <sup>1</sup> = H; R <sup>2,3,4</sup> =Br | Fe@3Br-TPP <b>5b</b> |
|  | R <sup>1,3</sup> = H; R <sup>2,4</sup> =Br | Fe@2Br-TPP <b>5c</b> |
|  | R <sup>1,2,3</sup> = H; R <sup>4</sup> =Br | Fe@1Br-TPP <b>5d</b> |
|  | R <sup>1,2,3,4</sup> = H                   | Fe@TPP <b>5e</b>     |

Los compuestos sintetizados han sido caracterizados físico-química y funcionalmente, evaluando su actividad como catalizadores de la reducción de cetonas a alcoholes en medio orgánico e inerte.

## 1.5. OBJETIVOS

Con todo lo anterior, el objetivo general de este trabajo es evaluar el efecto de la sustitución de bromos en la capacidad catalítica de transferencia de hidrógenos de los catalizadores de tipo tetrafenilporfirina con Fe (III). Para cumplir este objetivo, se han marcado los siguientes objetivos específicos:

1. Puesta a punto y optimización del procedimiento de síntesis, purificación y caracterización fisicoquímica de ligandos tipo porfirina **TPP, 1Br-TPP, 2Br-TPP, 3Br-TPP y 4Br-TPP**.
2. Síntesis, purificación y caracterización fisicoquímica de los complejos **Fe@TPP, Fe@1Br-TPP, Fe@2Br-TPP, Fe@3Br-TPP, Fe@4Br-TPP y Fe@5Br-TPP**.
3. Puesta a punto y optimización del procedimiento de catálisis de los complejos sintetizados en la reducción de acetofenona por transferencia de hidrógenos.
4. Análisis comparativo de la eficiencia catalítica de los complejos sintetizados.

Con los resultados obtenidos, se determinará si los compuestos obtenidos son buenos candidatos para pruebas posteriores en las que se investigará su estabilidad intracelular y finalmente, su posible uso como agentes terapéuticos contra la hiperglucemia y la hipercolesterolemia.

## **2. PARTE EXPERIMENTAL**

### **2.1. MATERIALES**

Los reactivos se adquirieron de casas comerciales habituales (Sigma Aldrich, Acros Organics, Scharlau, TCI y Thermoscientific) y se usaron sin previa purificación. Los disolventes utilizados se adquirieron de las casas comerciales Scharlab y Fisher, y se utilizaron también sin previa purificación, salvo el isopropanol utilizado en las catálisis, que se desgasificó.

Los espectros  $^1\text{H}$ -RMN se midieron en un Bruker avance 300 MHz. Los espectros de UV-Vis se midieron en un Jasco V-730 Spectrophotometer.

### **2.2. MÉTODOS**

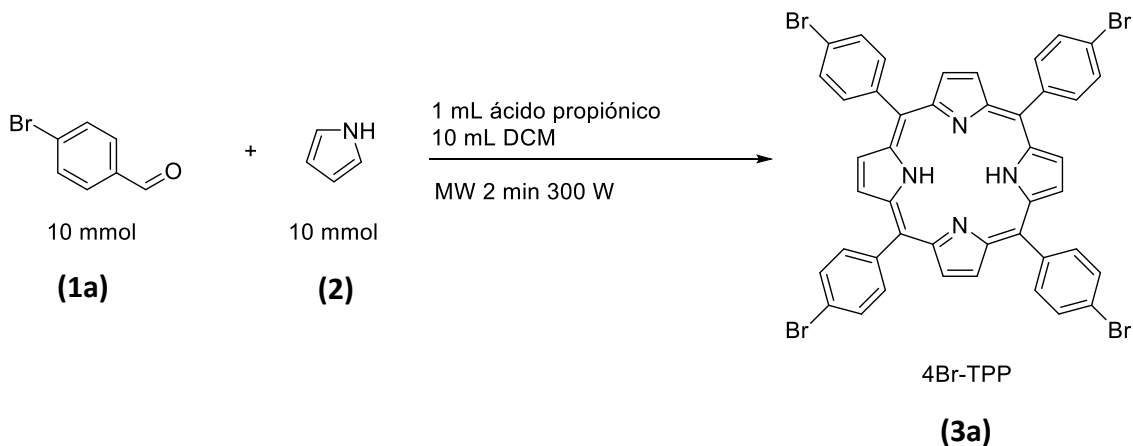
Las síntesis se realizaron en un reactor de microondas Monowave 400 de Anton Paar, o por reflujo usando placas calefactoras. La purificación se realizó por medio de columna cromatográfica con relleno de sílica (60Å) y por filtración a vacío con filtro de nylon ( $\phi=45\ \mu\text{m}$ ). Para eliminar los disolventes por evaporación, se utilizó un rotavapor R-100 de Buchi.

## 2.3. SÍNTESIS DE LIGANDOS:

Para la síntesis de los ligandos desarrollados, se probaron 5 metodologías sintéticas distintas.

### 2.3.1. SÍNTESIS 1:

El Esquema 6 muestra las condiciones empleadas en la síntesis del ligando 3a



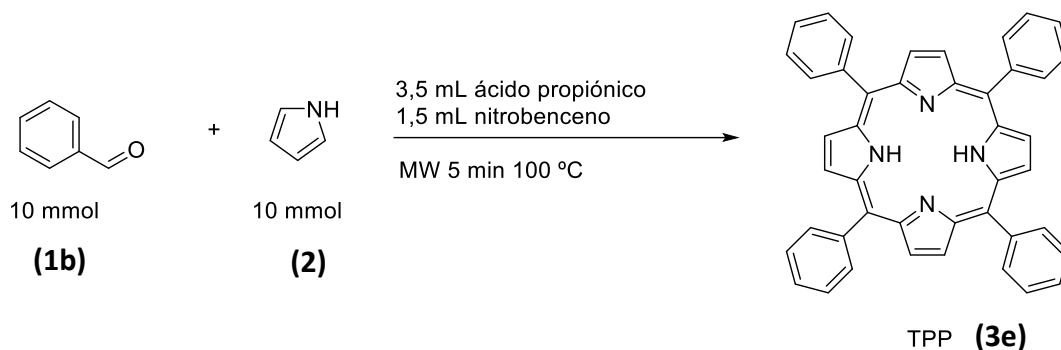
Esquema 6. Síntesis 1 (4Br-TPP)

A un vial de microondas de 30mL se añadieron 0,7 mL (10 mmol) de pirrol (2), 1,85 g (10 mmol) de 4-bromobenzaldehído (1a), 10 mL de DCM y 1 mL de ácido propiónico. El vial se puso en un reactor de microondas durante 2 min a 300W, tras lo que se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 5 min y se volvió a poner en el reactor con el mismo programa. Este procedimiento se repitió 10 veces. El crudo se purificó por columna cromatográfica con DCM:Hexano 7:3 y se recogió el producto (165 mg de sólido impuro) como una banda morada. El disolvente se eliminó por evaporación y se verificó por RMN y TLC (CHCl<sub>3</sub>:éter de petróleo 8:2, R<sub>f</sub>=0,95).



### 2.3.2. SINTESIS 2:

El Esquema 7 muestra las condiciones empleadas en la síntesis del ligando 3e.



Esquema 7. Síntesis 2 (TPP)

A un vial de 30 mL de microondas se añadieron 0,7 mL (10 mmol) de pirrol (**2**), 1,02 mL (10 mmol) de benzaldehído (**1b**), 3,5 mL de ácido propiónico y 1,5 mL de nitrobeneno. El vial se puso en un reactor de microondas durante 5 min a 100°C. El crudo obtenido se purificó por recristalización y posterior filtrado y lavado con MeOH, o por columna cromatográfica según la Tabla 2.

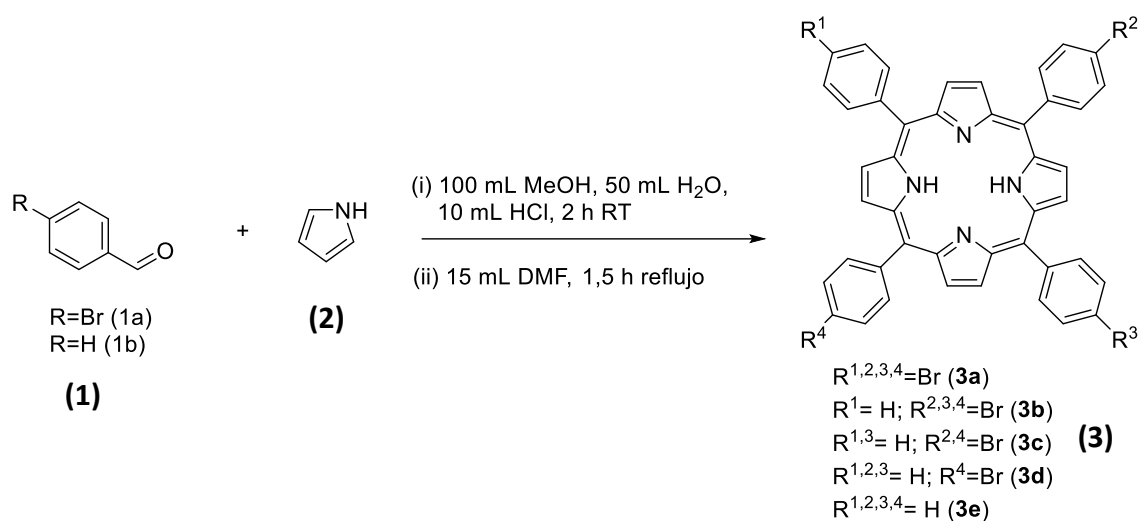
Purificación: La recristalización se realizó disolviendo el sólido en la cantidad mínima de DCM. Se añadió poco a poco MeOH hasta el triple de volumen, y se dejó cristalizar en el frigorífico durante la noche. Después, se filtró la mezcla a vacío y se lavó el filtrado con MeOH hasta que saliera transparente. Para purificar por columna cromatográfica, se probaron por TLC distintas proporciones de DCM y hexano, y se determinó en cada caso la mezcla adecuada. En todos los casos se recogió la banda granate-morada (**3e** impuro en todos los casos). La presencia del producto deseado se verificó por RMN.

Tabla 2. Resumen de condiciones de purificación y resultados de rendimiento y pureza del ligando 3e

| Número Purificación | Recristalización               | Columna           | Rendimiento            | Verificación RMN |
|---------------------|--------------------------------|-------------------|------------------------|------------------|
| Purificación 1      | 2 veces (5 mL DCM/ 15 mL MeOH) | 7:3<br>DCM:Hexano | 18,8 %<br>(288,2 mg)   | Impuro           |
| Purificación 2      | 1 vez (5mL DCM/ 15 mL MeOH)    | 3:1<br>DCM:Hexano | 43,5 %<br>(668,2 mg)   | Impuro           |
| Purificación 3      | 2 veces (5mL DCM/15 mL MeOH)   | -                 | 82,5 %<br>(1.267,5 mg) | Impuro           |

### 2.3.3. SINTESIS 3:

El Esquema 8 muestra las condiciones empleadas en la síntesis de los ligandos 3a-e.



Esquema 8. Síntesis 3 (3)

A una mezcla de 100 mL de MeOH y 50 mL de agua (2:1) se añadieron las cantidades mostradas en la Tabla 3 de benzaldehído (**1b**) y 4-bromobenzaldehído (**1a**) (según el producto deseado) y 140 µL (2 mmol) de pirrol (**2**). A dicha disolución se añadieron 10 mL de HCl 37% y se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. A continuación, se filtró a vacío y se disolvió el filtrado rosa en DMF.

La disolución resultante se llevó a reflujo durante 1,5 h. Tras finalizar el reflujo, se trasvasó la disolución a un vaso de precipitados y se dejó agitar durante la noche. Después, se eliminó el disolvente por evaporación y se purificó primero por recristalización seguido de columna cromatográfica utilizando DCM:Hexano 7:3 como eluyente (en el caso de **3a**). La pureza de los productos obtenidos se verificó por RMN.

Tabla 3. Cantidad utilizada de reactivos y proporciones en la Síntesis 3.

| Producto deseado      | Cantidad de benzaldehído (1b) | Cantidad de 4-bromobenzaldehído (1a) | 1b:1a |
|-----------------------|-------------------------------|--------------------------------------|-------|
| TPP ( <b>3e</b> )     | 204 $\mu$ L (2 mmol)          | -                                    | 1:0   |
| 1Br-TPP ( <b>3d</b> ) | 160 $\mu$ L (1,5 mmol)        | 97 mg (0,5 mmol)                     | 3:1   |
| 2Br-TPP ( <b>3c</b> ) | 102 $\mu$ L (1 mmol)          | 185 mg (1 mmol)                      | 2:2   |
| 3Br-TPP ( <b>3b</b> ) | 51 $\mu$ L (0,5 mmol)         | 282 mg (1,5 mmol)                    | 1:3   |
| 4Br-TPP ( <b>3a</b> ) | -                             | 370 mg (2 mmol)                      | 0:1   |

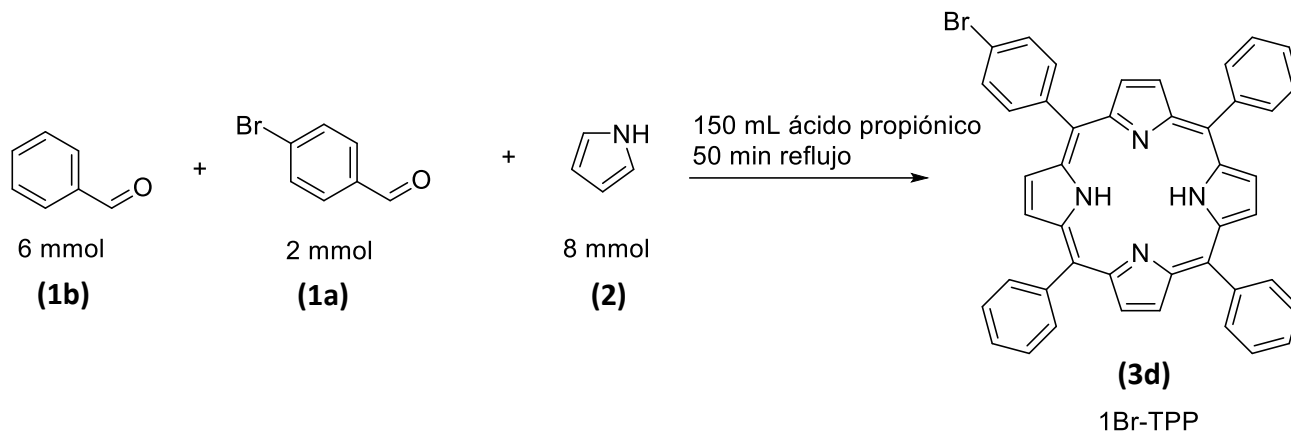
Purificación: La recristalización se realizó disolviendo el sólido en la cantidad mínima de DCM. Se añadió poco a poco MeOH hasta el triple de volumen, y se dejó cristalizar en el frigorífico durante la noche. Después, se filtró la mezcla a vacío y se lavó el filtrado con MeOH hasta que saliera transparente. La columna cromatográfica se realizó probando antes por TLC distintas mezclas de DCM y hexano como eluyente. En todos los casos se recogió la banda morada y se eliminó el disolvente por evaporación. En la Tabla 4 se muestran las purificaciones realizadas según el producto deseado.

Tabla 4. Resumen de condiciones de purificación y resultados de rendimiento y pureza de los ligandos sintetizados en la Síntesis 3

| Producto deseado      | Recristalización      | Columna (DCM:Hexano) | Rendimiento     | Verificación RMN     |
|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------|----------------------|
| TPP ( <b>3e</b> )     | 5 mL DCM + 15 mL MeOH | -                    | 60 mg (19,5 %)  | Puro                 |
| 1Br-TPP ( <b>3d</b> ) |                       | -                    | 5,3 mg (1,5 %)  | Impuro (mezcla TPPs) |
| 2Br-TPP ( <b>3c</b> ) |                       | -                    | 16,5 mg (4,3 %) | Impuro (mezcla TPPs) |
| 4Br-TPP ( <b>3a</b> ) |                       | 7:3                  | 7,8 mg (3,8 %)  | Puro                 |

### 2.3.4. SINTESIS 4

El Esquema 9 muestra las condiciones empleadas en la síntesis del ligando 3d.



Esquema 9. Síntesis 4 (3d)

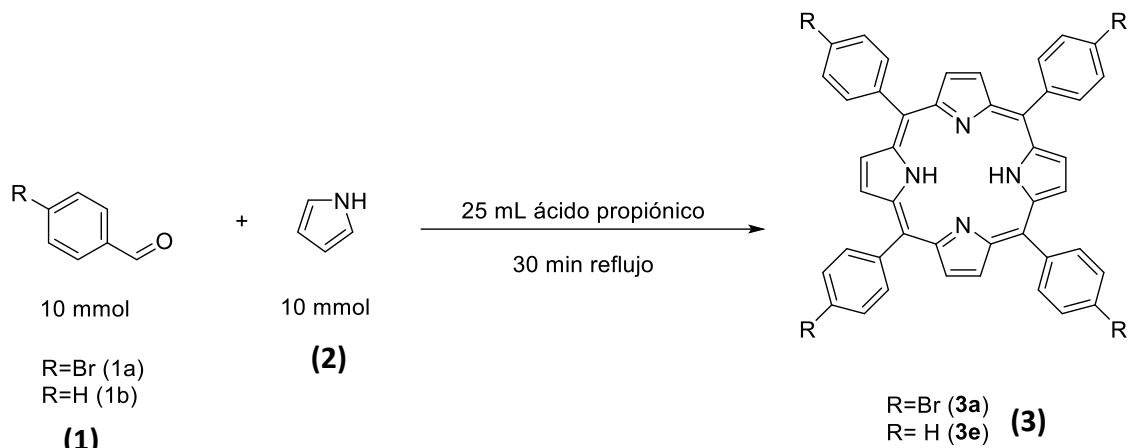
Se disolvieron 371,1 mg (2 mmol) de 4-bromobenzaldehído (1a), 613  $\mu$ L (6 mmol) de benzaldehído (1b) y 556  $\mu$ L (8 mmol) de pirrol (2) en 30 mL ácido propiónico y la mezcla se puso a reflujo durante 50 min. Después, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se eliminaron 20 mL de disolvente por evaporación. A la mezcla resultante se le añadieron 8 mL de etanol y se dejó cristalizar en el frigorífico durante la noche.

A continuación, se filtró a vacío y se lavó con etanol. El filtrado se purificó por columna cromatográfica utilizando solo DCM como eluyente y se recogió el producto 3d (mezcla de diferentes porfirinas sin impurezas) como una banda granate (185 mg). La pureza del producto obtenido se verificó por RMN.

Purificación: Al verificar por RMN, se observó una mezcla de porfirinas (3e, 3d, 3c y 3b) por lo que se hizo una segunda columna cromatográfica empezando con hexano:DCM 10:1 y aumentando la cantidad de DCM poco a poco hasta 100% DCM. Se verificaron las fracciones por TLC durante la columna. Se recogieron varias bandas granates y se evaporó el disolvente de cada fracción, y se verificó la pureza de los sólidos obtenidos por RMN (ver Resultados y Discusión sección 3.1.2).

### 2.3.5. SINTESIS 5

El Esquema 10 muestra las condiciones empleadas en la síntesis de los ligandos 3a y 3e.



Esquema 10. Síntesis 5 (**3a**, **3e**)

Se añadieron 700  $\mu\text{L}$  (10 mmol) de pirrol (**2**), y 1,02 mL de benzaldehído (**1b**) o 1,85 g de 4-bromobenzaldehído (**1a**) (10 mmol) a 25 mL de ácido propiónico. Se puso la mezcla a reflujo durante 30 min. y se dejó enfriar a temperatura ambiente. A continuación, se filtró la mezcla a vacío y se lavó con MeOH hasta que el lavado saliera transparente. Se recogió el sólido morado puro y se secó durante la noche. La pureza del sólido obtenido se verificó por RMN. Las cantidades de producto obtenidos se indican en la Tabla 5.

Purificación: Para obtener TPP (**3e**) pura no fue necesario ningún paso extra. Para purificar y obtener 4Br-TPP (**3a**), se cristalizó el filtrado disolviéndolo en la cantidad mínima de DCM, añadiendo MeOH poco a poco hasta triplicar el volumen y se dejó cristalizar durante la noche en el frigorífico. El sólido se filtró a vacío y se purificó por columna cromatográfica con 1:2 hexano:DCM. Se recogió la banda morada y la pureza del sólido obtenido se verificó por RMN.

Tabla 5. Resultados del rendimiento obtenido en la síntesis 5 de los ligandos **3a** y **3b**

| Producto deseado      | Rendimiento         |
|-----------------------|---------------------|
| TPP ( <b>3e</b> )     | 321,7 mg<br>(20,9%) |
| 4Br-TPP ( <b>3a</b> ) | 167,4 mg (7,2%)     |

## 2.4. CARACTERIZACIÓN DE LIGANDOS

### 2.4.1. TPP (**3e**)

- $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) (**3e**): -2,75 (s, 2H, -NH); 7,73-7,81 (m, 12H, m,p- $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 8,20-8,27 (dd, 8H, o- $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 8,85 (s, 8H, H $\beta$ -pirrol).
- UV-Vis (DCM, 300-800nm)  $\lambda$  (nm) (**3e**): 417 (banda Soret); 514; 549; 590; 646 (bandas Q).

### 2.4.2. 1Br-TPP (**3d**)

- $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) (**3d**): -2,78 (s, 2H, -NH); 7,73-7,83 (m, 9H, m,p- $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 7,92 (dd, 2H, o- $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$ ); 8,11 (dd, 2H, m- $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$ ); 8,20-8,27 (dd, 6H, o- $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 8,81-8,90 (m, 8H, H $\beta$ -pirrol).
- UV-Vis (DCM, 300-800nm)  $\lambda$  (nm) (**3d**): 418 (banda Soret); 514; 548; 589; 646 (bandas Q).

### 2.4.3. 2Br-TPP (**3c**)

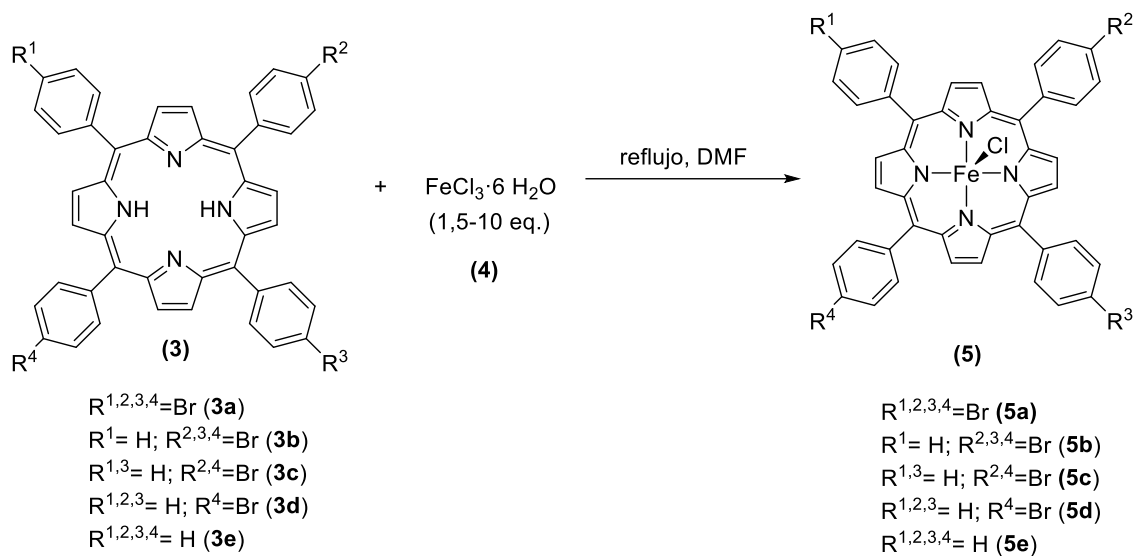
- $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) (**3c**): -2,80 (s, 2H, -NH); 7,76-7,83 (m, 6H, m,p- $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 7,92 (dd, 4H, o- $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$ ); 8,11 (dd, 4H, m- $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$ ); 8,20-8,25 (dd, 4H, o- $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 8,81-8,90 (m, 8H, H $\beta$ -pirrol).
- UV-Vis (DCM, 300-800nm)  $\lambda$  (nm) (**3c**): 418 (banda Soret); 515; 549; 589; 647 (bandas Q).

### 2.4.4. 4Br-TPP (**3a**)

- $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) (**3a**): -2,87 (s, 2H, -NH); 7,93 (dd, 8H, o- $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$ ); 8,09 (dd, 8H, m- $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$ ); 8,87 (s, 8H, H $\beta$ -pirrol).
- UV-Vis (DCM, 300-800nm)  $\lambda$  (nm) (**3a**): 419 (banda Soret); 515; 550; 589; 646 (bandas Q).

## 2.5. SÍNTESIS DE COMPLEJOS

El Esquema 11 muestra las condiciones empleadas en la síntesis de los complejos 5a-e.



Esquema 11. Síntesis de complejos 5a-e

En un matraz de fondo redondo de 10 mL se disolvieron los distintos ligandos porfirina (**3**) y cloruro férrico (**4**) (Tabla 6) en 5 mL de DMF (N, N-dimetilformamida). Esta mezcla se calentó a reflujo durante distintos tiempos (dependiendo de la porfirina usada, Tabla 6). La reacción se monitorizó mediante UV-Vis hasta la desaparición de dos de las cuatro bandas Q (ver Resultados y Discusión sección 3.2.2). Después se introdujo el vial con la mezcla en un baño de hielo y se dejó enfriar 10 min. A continuación, se añadieron a la mezcla 5 mL de agua destilada y 1 mL de una disolución de HCl 6M y se filtró a vacío, realizando varios lavados con agua destilada. Se recogió el filtrado y se dejó secar a vacío durante la noche. Una vez seco, se purificó el sólido obtenido por columna cromatográfica (ver purificación) y se recogió la banda marrón. Los sólidos obtenidos se caracterizaron mediante RMN y UV-Vis.

Purificación: primero, se acondicionó la columna con sílica en una mezcla 1:1 DCM:hexano y se añadió NaCl encima de la sílica (2cm de grosor), antes de añadir la arena. Tras cargar la columna con el crudo, se aumentó progresivamente la proporción de DCM hasta un 100% de DCM y se siguió añadiendo hasta que el eluyente salió transparente, descartando las bandas moradas que salieron. Después, se fue añadiendo MeOH al eluyente en muy pequeña proporción (se empezó con 0,5% MeOH hasta un máximo de 2% MeOH) y se recogieron las bandas marrones-amarillas. Las distintas fracciones de la columna se caracterizaron mediante UV-vis y RMN.

Tabla 6. Condiciones de síntesis y resultados obtenidos de rendimiento de los complejos 5a-e

| Producto deseado | TPP usada    | Cantidad TPP        | Cantidad FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O | t reacción (h) | Rendimiento     |
|------------------|--------------|---------------------|---|----------------|-----------------|
| Fe@4Br-TPP (5a)  | 4Br-TPP (3a) | 100 mg (0,107 mmol) | 232 mg (0,86 mmol)                            | 3,5            | 78,4 mg (71,9%) |
| Fe@3Br-TPP (5b)  | 3Br-TPP (3b) | -                   | -   | -              | -               |
| Fe@2Br-TPP (5c)  | 2Br-TPP (3c) | 17 mg (0,022 mmol)  | 59 mg (0,22 mmol)                             | 3,5            | 14,2 mg (75,7%) |
| Fe@1Br-TPP (5d)  | 1Br-TPP (3d) | 45 mg (0,066 mmol)  | 179 mg (0,66 mmol)                            | 3              | 10,9 mg (21,0%) |
| Fe@TPP (5e)      | TPP (3e)     | 100 mg (0,163 mmol) | 88 mg (0,326 mmol)                            | 1              | 95,9 mg (83,6%) |



## 2.6. CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS

### 2.6.1. Fe@TPP (**5e**)

- $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) (**5e**): 6,41 (br s, p- $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 7,80 y 7,67 (br m, o- $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 12,23 y 13,46 (br s, m- $\text{C}_6\text{H}_5$ ).
- UV-Vis (DCM, 300-800nm)  $\lambda$  (nm) (**5e**): 415 (banda Soret); 506; 571 (bandas Q).

### 2.6.2. Fe@1Br-TPP (**5d**)

- $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) (**5d**): 6,41 (br s, p- $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 7,69 y 7,82 (br m, o- $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 12,20 y 13,42 (br s, m- $\text{C}_6\text{H}_5$  y m- $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$ );
- UV-Vis (DCM, 300-800nm)  $\lambda$  (nm) (**5d**): 415 (banda Soret); 508; 572 (bandas Q).

### 2.6.3. Fe@2Br-TPP (**5c**)

- $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) (**5c**): 6,49 (br s, p- $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 7,70 y 7,84 (m, o- $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 12,16 y 13,49 (br s, m- $\text{C}_6\text{H}_5$  y m- $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$ );
- UV-Vis (DCM, 300-800nm)  $\lambda$  (nm) (**5c**): 415 (banda Soret); 506; 570; 609 (bandas Q).

### 2.6.4. Fe@4Br-TPP (**5a**)

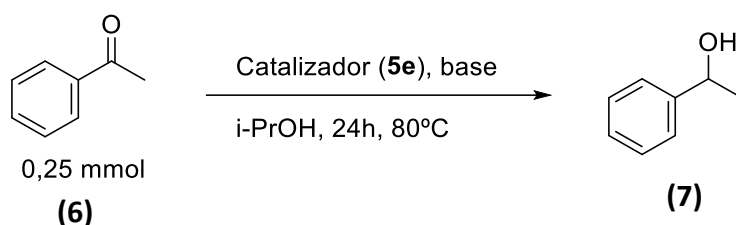
- $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) (**5a**): 7,63 (m, o- $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$ ); 12,30 y 13,40 (br s, m- $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$ );
- UV-Vis (DCM, 300-800nm)  $\lambda$  (nm) (**5a**): 417 (banda Soret); 509; 573 (bandas Q).

## 2.7. PROCEDIMIENTOS DE CATÁLISIS

Se utilizaron 2 metodologías distintas para determinar las capacidades catalíticas de los complejos desarrollados (ver Resultados y Discusión sección 3.3). Todas las reacciones de catálisis se realizaron en atmósfera inerte (Argón).

### 2.7.1. PROCEDIMIENTO 1

El Esquema 12 muestra las condiciones empleadas en el primer procedimiento de catálisis.



Esquema 12. Procedimiento 1 de catálisis

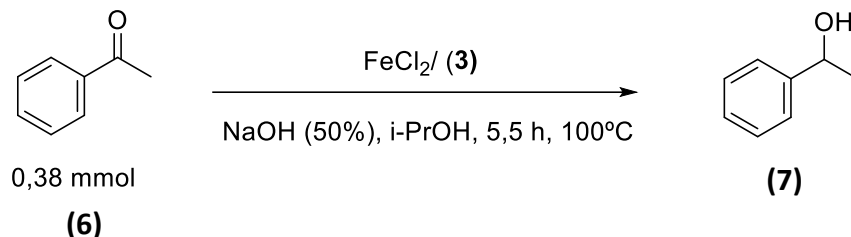
A un matraz Schlenk de 10 mL se añadieron 3,5 mg (0,005 mmol, 2%) o 0,9 mg (0,00125 mmol, 0,5%) de Fe@TPP **5e**. Después, se acondicionó el matraz Schlenk aplicando vacío durante 2 min y posteriormente Argón durante 15s. Este procedimiento se repitió 3 veces para asegurar una atmósfera inerte. Después se añadió una disolución de 29  $\mu$ L (0,25 mmol) de acetofenona **6** y las bases indicadas en la Tabla 7 en 1 mL de isopropanol previamente desgasificado. La mezcla se calentó a 80°C durante 24h. Para calcular la conversión, se aislaron el sustrato y el producto por columna cromatográfica de sílica en una pipeta pasteur, utilizando 4 mL de etil acetato:hexano 1:1 como eluyente. Se recogió todo el eluyente y se eliminó el disolvente por evaporación. La conversión se verificó por RMN.

Tabla 7. Cantidades de reactivos usadas en procedimiento 1 de catálisis

| Base utilizada                 | Cantidad de base           | Cantidad de catalizador ( <b>5e</b> ) |
|--------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|
| Me <sub>3</sub> NO             | 1,11 mg (0,01 mmol, 4%)    | 3,5 mg (0,005 mmol, 2 %)              |
| K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 13,1 mg (0,0625 mmol, 25%) | 0,9 mg (0,00125 mmol, 0,5 %)          |

## 2.7.2. PROCEDIMIENTO 2

El Esquema 13 muestra las condiciones empleadas en el segundo procedimiento de catálisis.



Esquema 13. Procedimiento 2 de catálisis

Se preparó el catalizador *in situ* añadiendo a un matraz Schlenk de 10 mL (previamente acondicionado con el método descrito en el Procedimiento 1) una disolución de 0,5 mg (0,0038 mmol) de cloruro de hierro (II) y 0,0038 mmol (ver cantidades de Tabla 8) de ligando **3** en 1 mL de isopropanol previamente desgasificado, y calentando durante 16h a 65°C. Después, se añadió una disolución de 7,6 mg (0,19 mmol) de NaOH en 0,5 mL de isopropanol y se calentó a 100°C durante 5 min. Posteriormente, se añadió una disolución de 88 µL (0,76 mmol) de acetofenona **6** en 0,5 mL de isopropanol y se calentó la mezcla durante 5,5 h a 100°C. Para calcular la conversión, se aislaron el sustrato y el producto por columna cromatográfica de sílica en una pipeta pasteur, utilizando 4 mL de etil acetato:hexano 1:1 como eluyente. Se recogió todo el eluyente y se eliminó el disolvente por evaporación. La conversión se verificó por RMN.

Tabla 8. Cantidades de ligando usadas para preparar el catalizador *in situ*

| Ligando 3 | Cantidad ligando | Mol%  |
|-----------|------------------|-------|
| <b>3a</b> | 3,5 mg           | 0,5 % |
| <b>3c</b> | 2,9 mg           |       |
| <b>3d</b> | 2,6 mg           |       |
| <b>3e</b> | 2,3 mg           |       |

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. LIGANDOS

##### 3.1.1. TPP (**3e**) Y 4Br-TPP (**3a**) (TETRASUSTITUIDOS)

Para la síntesis de TPP (**3e**) y 4Br-TPP (**3a**), primero se intentó sintetizar los distintos ligandos usando el reactor de microondas, utilizando procedimientos ya descritos (Síntesis 1 y 2)<sup>34,35</sup>. Ambos procedimientos fueron modificados cambiando algunas condiciones (tiempo de reacción, disolvente, temperatura...) para intentar optimizar los resultados obtenidos. Sin embargo, al analizar por RMN los productos crudos y purificados se observó siempre la presencia de muchas señales correspondientes a impurezas, que no fue posible eliminar por ninguno de los métodos intentados. En la Tabla 2 se muestran las verificaciones y purificaciones realizadas en cada uno de los intentos de síntesis siguiendo el procedimiento descrito en la Síntesis 2. Como ejemplo se muestra en la Figura 9 el RMN de TPP (**3e**) impuro antes y después de la recristalización en la Síntesis 2 comparado con el puro obtenido en la Síntesis 3, en el que se pueden observar las múltiples señales de las impurezas. Esta metodología sintética se descartó debido al exceso de subproductos generados, derivados probablemente de unas condiciones de reacción no adecuadas (tiempo de reacción demasiado largo, oxidante (nitrobenceno) demasiado fuerte o poca cantidad de disolvente).

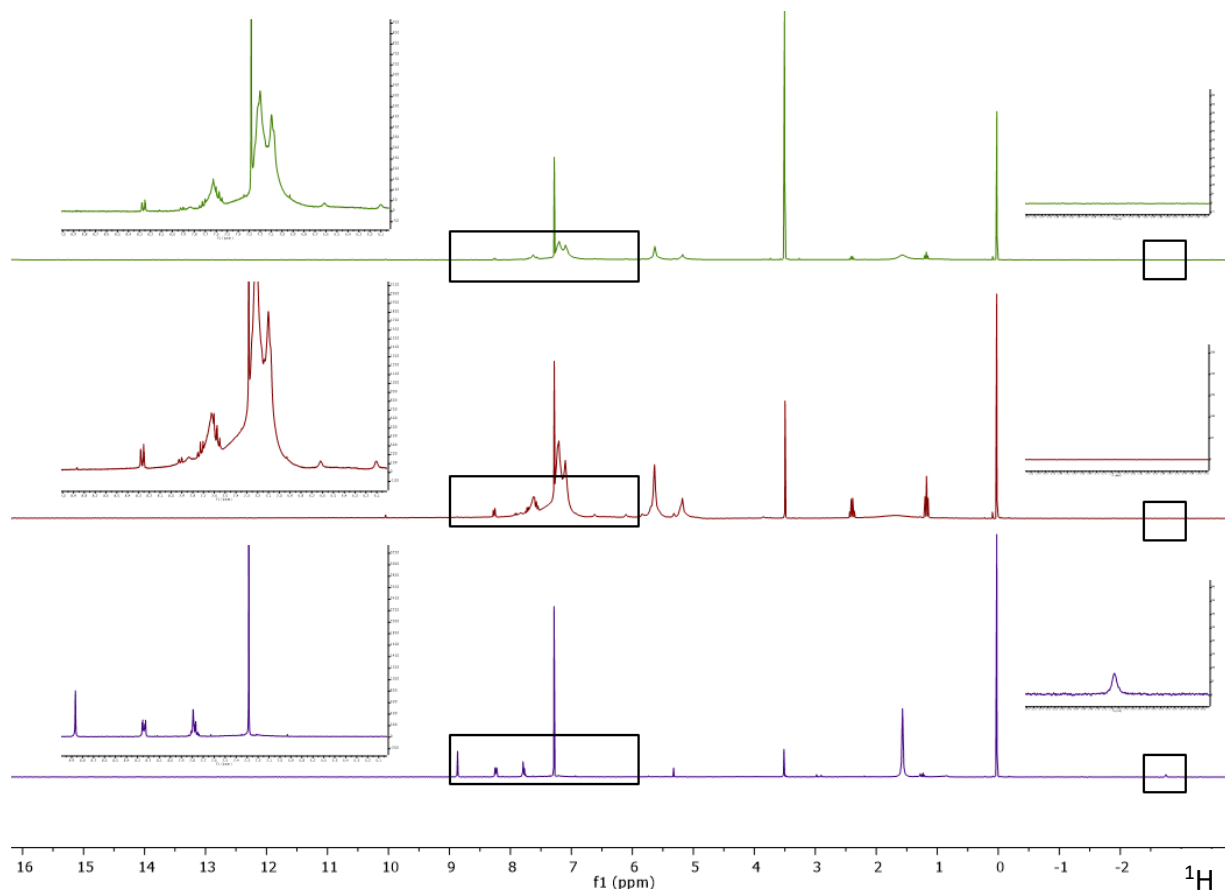
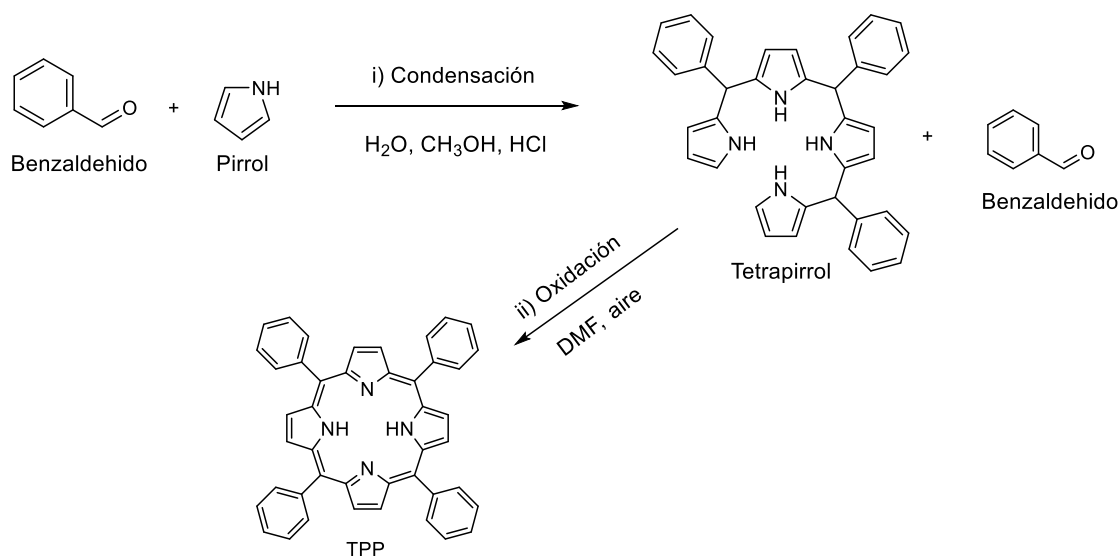


Figura 9.  $^1\text{H}$ -RMN de producto obtenido en Síntesis 2 antes (rojo) y después de la cristalización (verde), comparado con el compuesto puro (morado)

Para intentar reducir la cantidad de subproductos generados en la síntesis de microondas, se realizó el procedimiento reportado de la Síntesis 3<sup>36</sup>, que consiste en una reacción en 2 pasos en la que primero se condensan el pirrol y el benzaldehído en medio ácido para formar un tetrapirrol (sólido rosa, que contiene también el benzaldehído excedente de la condensación, que permanece en la fase sólida durante la filtración formando enlaces de coordinación con el tetrapirrol), que después se calienta a reflujo con DMF para dar porfirina (**3**), paso en el que el benzaldehído se condensa con el tetrapirrol y el porfirinógeno formado se oxida para dar porfirina, tal como se muestra en el Esquema 14. Se eligió este método porque se genera la porfirina a partir de un intermediario (tetrapirrol) cuya síntesis ya está reportada, en lugar de una condensación directa entre el benzaldehído y el pirrol, que genera muchos productos de oligocondensación no deseados. Al utilizar directamente este intermediario para la síntesis de porfirina, se reduce en gran medida la cantidad de subproductos generados<sup>36</sup>.

En este caso, el crudo de la reacción (disolución negra) fue más fácil de purificar, y se obtuvieron TPP o 4Br-TPP puras como un sólido morado con una sola cristalización o columna, respectivamente. Esto indica una menor cantidad de subproductos en la síntesis, tal como se había descrito, lo que soluciona el problema de las síntesis por reactor de microondas (Síntesis 1 y 2). En la Tabla 4 se muestran todas las purificaciones realizadas y la pureza de los sólidos obtenidos.



Esquema 14. Pasos de Síntesis 3

Para intentar optimizar la metodología, se realizó el procedimiento reportado de la Síntesis 5<sup>37</sup>, que consiste en un reflujo con ácido propiónico durante 30 min, en el que ocurren la condensación y la oxidación al mismo tiempo. Para la purificación de TPP (**3e**) solamente fue necesario filtrar a vacío la disolución después de la reacción. Esto supone una disminución significativa en el tiempo de reacción y de purificación de **3e**. Esto no fue suficiente en la purificación de 4Br-TPP (**3a**) y se tuvo que realizar una columna cromatográfica para poder purificarla, igual que en las demás Síntesis. Por otro lado, los rendimientos obtenidos son mucho mayores en la Síntesis 5 que en la Síntesis 3 para ambos compuestos (Tabla 9), por lo que se utilizó esta metodología como estándar para sintetizar porfirinas tetrasustituidas (**3e** y **3a**).

Tabla 9. Comparación de los rendimientos obtenidos para los ligandos **3a** y **3e** en las Síntesis 3 y 5

| Síntesis | Rendimiento           |                   |
|----------|-----------------------|-------------------|
|          | 4Br-TPP ( <b>3a</b> ) | TPP ( <b>3e</b> ) |
| <b>3</b> | 3,8 %                 | 19,5 %            |
| <b>5</b> | 7,2 %                 | 20,9 %            |

Para purificar TPP (**3e**) en la mayoría de los casos (Síntesis 1,2 y 3) se realizó una cristalización, y en la Síntesis 5 fue suficiente con filtrar el crudo de la reacción a vacío. Para la purificación de 4Br-TPP (**3a**) en todos los casos fue necesario hacer varias TLC en cada síntesis probando con diferentes proporciones de DCM:hexano para determinar con cuál realizar la columna, ya que en cada uno de los intentos la banda morada correspondiente a la porfirina pura se separó con diferentes eluyentes. Esto es debido a que las porfirinas son compuestos muy sensibles a las condiciones de reacción (luz, cambios de temperatura, etc.), por lo que los distintos procedimientos sintéticos generan diferentes subproductos (corroles, porfirinógeno, clorines...) con diferentes polaridades.

### 3.1.2. 1Br-TPP (**3d**), 2Br-TPP (**3c**) y 3Br-TPP (**3b**) (INTERMEDIOS)

Primero, se intentaron sintetizar con la metodología descrita en la Síntesis 3 utilizando diferentes proporciones de 4-bromobenzaldehído (**1a**) y benzaldehído (**1b**) (descritas en la Tabla 3), que según la literatura<sup>36</sup> tienen la misma reactividad. Sin embargo, las cantidades de producto **3d**, **3b** y **3c** obtenidas fueron muy pequeñas (máximo 16,5 mg; rendimiento <5%) y al verificar por RMN se observó una mezcla de porfirinas sustituidas con 1-4 bromos (**3a-3d**).

Después, se siguió la metodología reportada<sup>38</sup> para la síntesis de 1Br-TPP (**3d**), que se basa en un reflujo de pirrol y benzaldehídos (**1a** y **1b**) en ácido propiónico (igual que la Síntesis 5) y está descrita en la Síntesis 4. En este caso, se obtuvo una gran cantidad de producto (205 mg). Sin embargo, al verificar por RMN se observó que se había obtenido una mezcla de porfirinas, ya que la señal de -2,7 ppm está desdoblada y no es un singlete.

Según la literatura<sup>39</sup>, se puede identificar una mezcla de porfirinas viendo la multiplicidad de la señal correspondiente a los grupos -NH (entre -2,75 y -2,87 ppm), ya que la sustitución de bromos provoca un desplazamiento hacia valores de ppm menores (ver Caracterización de Ligandos). En este caso, el RMN realizado tras la recristalización presenta un multiplete en la región -NH, en la que cada señal corresponde a uno de los ligandos (**3e**, **3d**, **3c** y **3b**). En la Figura 10 se muestran las diferentes señales de los ligandos en la región -NH del RMN del producto. Las intensidades también son proporcionales a la concentración.

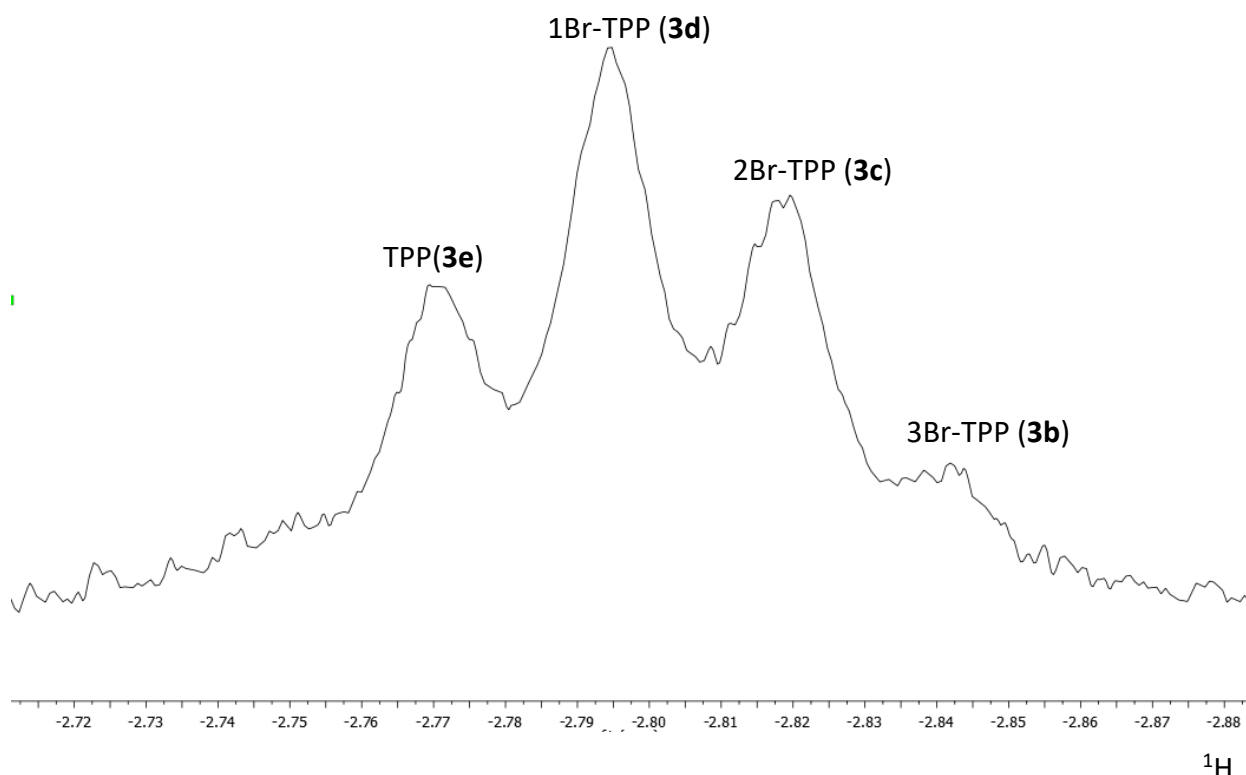


Figura 10. Región -NH (aumentada) del espectro <sup>1</sup>H-RMN de producto obtenido en Síntesis 4

Las porfirinas de la mezcla obtenida se intentaron aislar por columna cromatográfica. Primero, se probaron distintas proporciones de DCM y hexano, y se observó que las distintas bandas se separaban muy poco y muy lentamente. En base a esto, se hizo una columna empezando con DCM:Hexano 1:3 y aumentando la proporción de DCM progresivamente hasta 100% de DCM. Al hacer la columna, solo se apreció una banda larga morada (sin separaciones) y se recogieron 3 fracciones según el eluyente usado. En la Figura 11 se muestran las composiciones de las distintas fracciones de la columna, y en la Tabla 10 las cantidades obtenidas y los eluyentes utilizados.



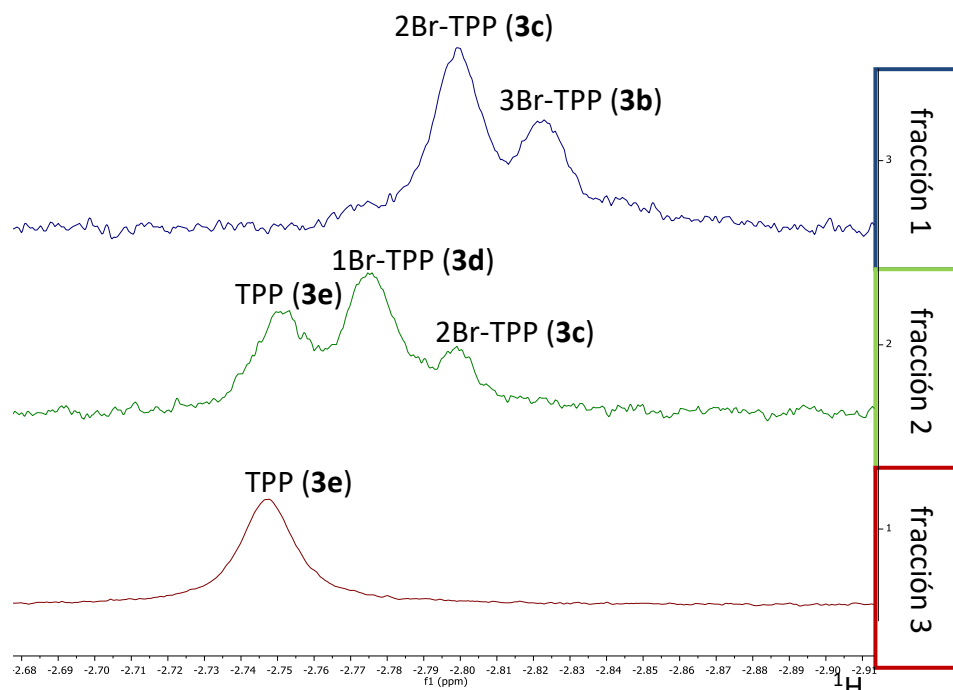


Figura 11.  $^1\text{H}$ -RMN de las 3 fracciones de la primera columna de la Síntesis 4 (región -NH)

Tabla 10. Composición de las fracciones de la primera columna de la Síntesis 4

| Fracción | Cantidad obtenida | Eluyente (DCM:Hexano) | Composición |
|----------|-------------------|-----------------------|-------------|
| 1        | 39 mg             | 1:3                   | 3c (66%)    |
|          |                   |                       | 3d (34%)    |
| 2        | 150 mg            | 1:2                   | 3e (33%)    |
|          |                   |                       | 3d (48%)    |
|          |                   |                       | 3c (19%)    |
| 3        | 14 mg             | 1:0                   | 3e (100%)   |

Las composiciones de las fracciones obtenidas se calcularon aproximando cada pico de la señal a una función lorentziana (deconvolución). Para intentar aislar aún más los ligandos mayoritarios (1Br-TPP **3d**, y 2Br-TPP **3c**), se hizo una columna cromatográfica de la segunda fracción, esta vez con mayor resolución. Para ello se usó una columna de mayor diámetro y mezclas de disolventes asegurando una elución muy lenta. Se acondicionó la columna con hexano y cuando se cargó la muestra se empezó a eluir con DCM:hexano 1:10. Al ver que la banda no se movía, se aumentó progresivamente la proporción de DCM en el eluyente hasta 1:5, cuando empezó a moverse muy lentamente. Se continuó añadiendo eluyente hasta que la banda morada empezó a eluir, y se recogieron varias fracciones, confirmando su pureza por TLC. Cuando se vio que el eluyente salía

muy diluido (color rosa casi transparente), se subió la proporción de eluyente y se recogieron fracciones siguiendo el mismo procedimiento. En total se recogieron 10 fracciones (indicadas en la Tabla 11), que se caracterizaron por RMN (Figura 12) y se comparó la región de -2,75 a -2,87 ppm para comprobar la identidad de los ligandos obtenidos y su pureza.

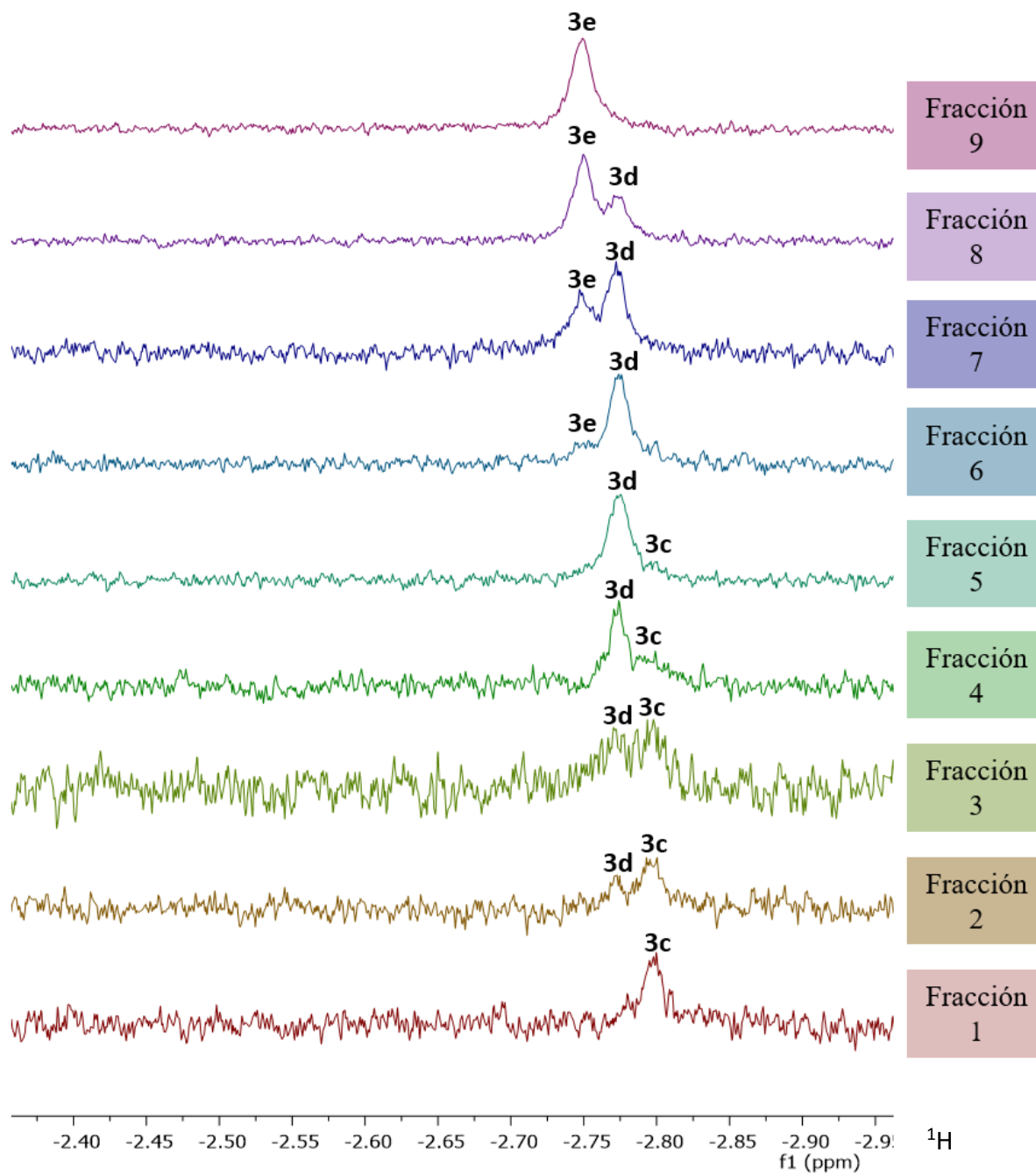


Figura 12. Región -NH (aumentada) del espectro <sup>1</sup>H-RMN de las fracciones de la segunda columna de la Síntesis 4

Tabla 11. Composición de las fracciones de la segunda columna de la Síntesis 4

| Fracción | Cantidad | Eluyente (DCM:hexano) | Composición      |
|----------|----------|-----------------------|------------------|
| 1        | 9,7 mg   | 1:5                   | <b>3c</b> (100%) |
| 2        | 7,1 mg   | 1:4                   | <b>3c</b> (65%)  |
|          |          |                       | <b>3d</b> (35%)  |
| 3        | 2,5 mg   | 1:4                   | <b>3c</b> (47%)  |
|          |          |                       | <b>3d</b> (53%)  |
| 4        | 25,5 mg  | 1:3,5                 | <b>3c</b> (35%)  |
|          |          |                       | <b>3d</b> (65%)  |
| 5        | 10,7 mg  | 1:3                   | <b>3c</b> (3%)   |
|          |          |                       | <b>3d</b> (97%)  |
| 6        | 9,7 mg   | 1:2,5                 | <b>3d</b> (85%)  |
|          |          |                       | <b>3e</b> (15%)  |
| 7        | 22,2 mg  | 1:2                   | <b>3d</b> (54%)  |
|          |          |                       | <b>3e</b> (46%)  |
| 8        | 26,5 mg  | 1:1                   | <b>3d</b> (38%)  |
|          |          |                       | <b>3e</b> (62%)  |
| 9        | 21,2 mg  | 1:0                   | <b>3e</b> (100%) |

Mediante esta columna, se consiguió una fracción pura de ligando 2Br-TPP (**3c**) (fracción 1), así como otras dos de gran pureza del ligando 1Br-TPP (**3c**) (fracciones 5 y 6). En la Figura 12 se observa una progresión desde el primer compuesto en eluir **3c** (que eluye con la polaridad más baja), pasando por **3d** hasta obtener una fracción de **3e** pura (que eluye con la polaridad más alta), ya que la señal se va desplazando hacia la izquierda (de mayor (-2,80 ppm) a menor (-2,75 ppm) número de bromos). El ligando **3b** no se pudo aislar, ya que estaba contenido en otra fracción de la primera columna y por falta de tiempo no se pudo hacer otra columna de esa fracción.

### 3.1.3. CARACTERIZACIÓN

Se han realizado espectros RMN y UV-visible de todos los ligandos purificados, que se muestran comparados en la Figura 13. Los datos obtenidos coinciden con los descritos en la bibliografía<sup>36,40</sup>.

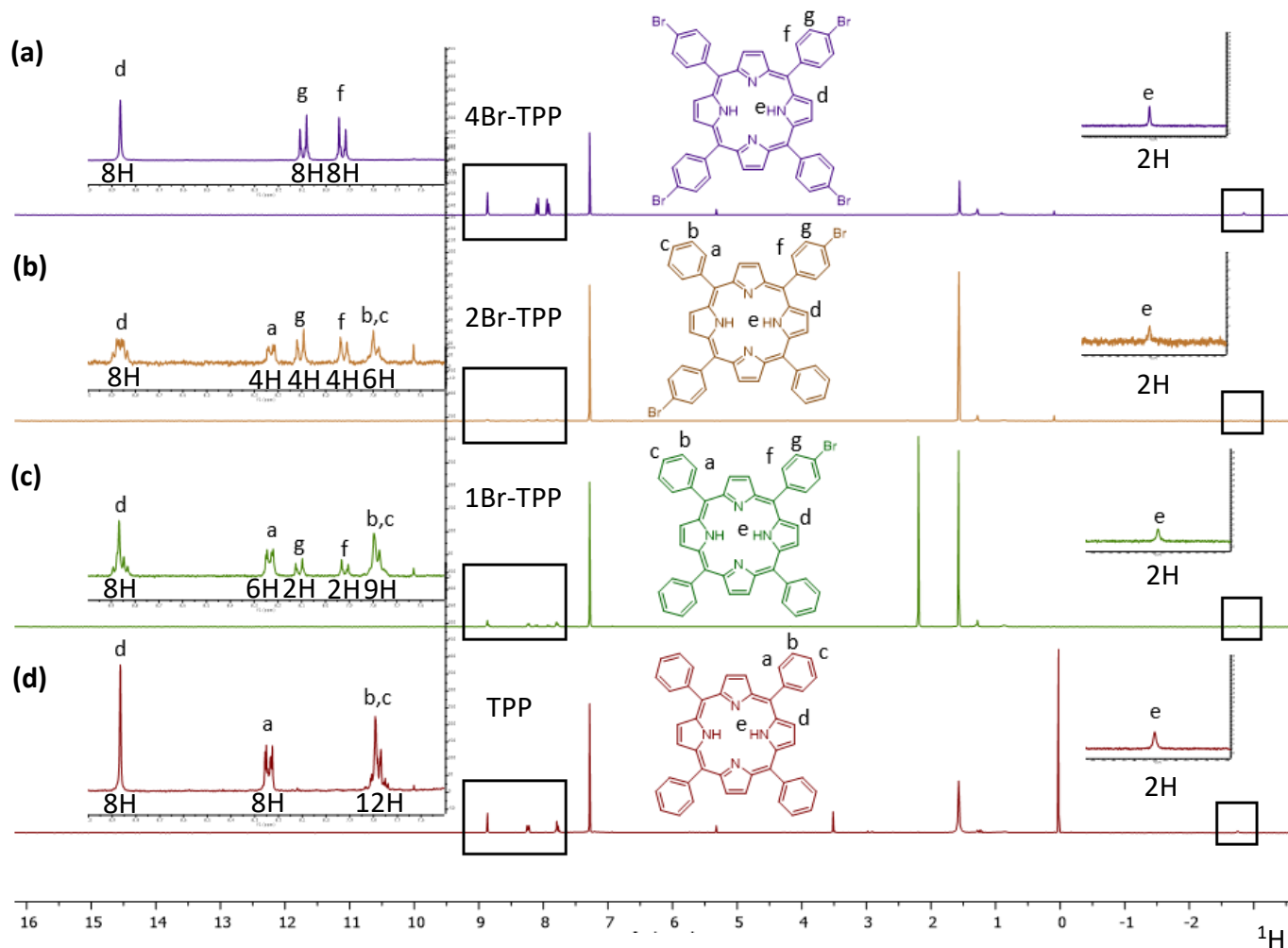


Figura 13.  $^1\text{H}$ -RMN de los ligandos sintetizados (a) 4Br-TPP (b) 2Br-TPP (c) 1Br-TPP (d) TPP

En la Figura 13 se observa que todos los espectros de los ligandos presentan un solo singlete entre -2,75 y -2,87 ppm, que corresponde a los protones N-H (e). Esto nos indica que hay una porfirina pura y no una mezcla (excepto en el espectro de 1Br-TPP (**3d**), que contiene un 97% de este compuesto y no se pudo aislar por completo, tal como se observa en la fracción 5 de la Figura 12). Otra de las señales características de las porfirinas es la señal entre 8,80 y 8,90 ppm, que corresponde a los protones de los pirroles (d). En las tetrasustituidas aparece como un singlete, pero en las intermedias su multiplicidad aumenta, ya que al introducir el bromo estos 8 protones resuenan a ppm ligeramente distintos y se diferencian. Para diferenciar los ligandos entre sí y confirmar su presencia, se observan los picos correspondientes a los protones aromáticos: en TPP (**3e**), se observan dos multipletes correspondientes a los protones de los fenilos monosustituidos (a,b,c) (donde b y c tienen desplazamientos químicos parecidos) y en 4-Br-TPP (**3a**) aparecen dos dobles dobletes, que corresponden a los protones de los fenilos disustituidos (f,g). Estas señales están desplazadas respecto a las de los fenilos monosustituidos, debido a que el bromo tiene un efecto desapantallador en los protones cercanos (g) que hace que la señal de estos se desplace. Por esta razón, los protones más cercanos (en orto) a los bromos (g) resuenan a mayores ppm que los protones en meta a estos (e). En los espectros de los ligandos 1Br-TPP y 2Br-TPP (**3c** y **3d**) se observan las señales de ambos fenilos (monosustituidos y disustituidos), que están presentes en estos compuestos. Para diferenciarlos entre sí, se repara en las integrales de las distintas señales de los protones aromáticos: cada uno de los picos correspondientes a los protones f y e en 2Br-TPP (**3c**) integran por 4, lo que indica la presencia de dos bromofenilos, y en 1Br-TPP (**3d**) integran por 2, lo que indica la presencia de un bromofenilo. En cuanto a los protones de los fenilos monosustituidos (a,b), sus integrales suman 10 en **3c** y 15 en **3d**, lo que corresponde al número de protones a y b de ambos compuestos.

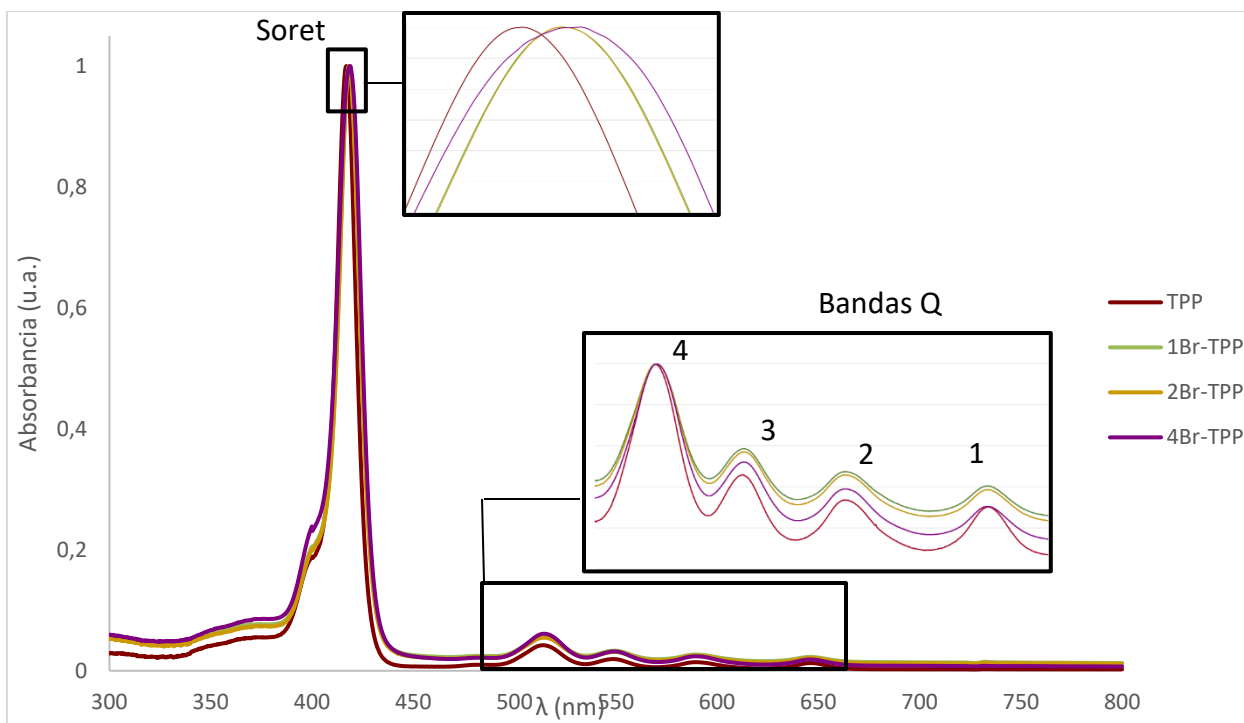


Figura 14. Espectros UV-Vis normalizado de ligandos sintetizados, 3e (rojo), 3d (verde), 3c (naranja), 3a (morado)

Los espectros de UV-Vis muestran la presencia de dos regiones de absorción típicas de estos sistemas TPP (Figura 14): la banda Soret, que contiene las transiciones del estado fundamental al segundo estado excitado ( $S_0 \rightarrow S_2$ ), y las bandas Q, que contienen las transiciones (más débiles) al primer estado excitado ( $S_0 \rightarrow S_1$ ). Según el modelo de 4 orbitales propuesto por Gouterman<sup>41</sup> las bandas del espectro de absorción de TPP corresponden a las transiciones entre los 2 HOMO ( $a_{1u}$  y  $a_{2u}$ ) y los 2 LUMO (orbitales  $e_g$ ) del ligando ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ). Estas transiciones generan estados excitados de la misma simetría ( ${}^1E_u$ ), cuya repulsión a su vez genera un estado  ${}^1E_u$  de mayor energía ( $S_2$ ) (correspondiente a la intensa banda Soret) y un estado  ${}^1E_u$  de menor energía ( $S_1$ ) (correspondiente a las bandas Q). Los orbitales implicados en dichas transiciones no están completamente degenerados debido a la simetría del ligando, lo que explica la aparición de 4 bandas Q en lugar de 2 (Figura 15). Como se observa en las intensidades relativas y longitudes de

onda en la figura 5, las bandas coinciden con la estructura predicha. Además, la intensidad relativa de las bandas Q es  $IV > III > II > I$ , habitual en porfirinas meso-sustituidas<sup>42</sup>.

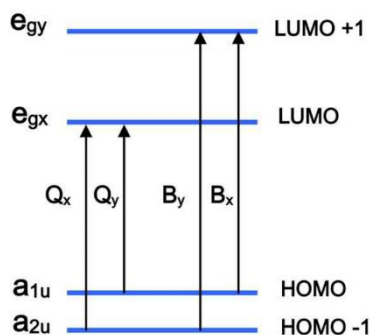


Figura 15. Transiciones HOMO-LUMO de ligandos

También se observa un desplazamiento de la banda Soret entre los diferentes ligandos, aunque no es muy significativo. Esto se debe a que la presencia de bromos aumenta la conjugación  $\pi$  del sistema (auxocromo), lo que disminuye la energía de transición entre HOMO-LUMO y aumenta la longitud de onda de esta<sup>43,44</sup>. Como el sistema ya tiene conjugación  $\pi$  ( $22e^-$ ) (cromóforo), solo aumenta ligeramente, por lo que el efecto no es significativo (de 417 (**3e**) a 419 nm (**3a**)). Los datos obtenidos para las bandas de cada ligando coinciden con los descritos en la literatura<sup>35,45,46</sup>.

## 3.2. COMPLEJOS

### 3.2.1. METODOLOGÍA SINTÉTICA

Se decidió utilizar una sal de Fe(III) para formar los complejos ya que los complejos de Fe(III) con ligando axial Cl<sup>-</sup> son más estables al aire (que los complejos de Fe(II)) y permiten ser almacenados sin degradación.

Los complejos Fe@4Br-TPP (**5a**) y Fe@TPP (**5e**) se obtuvieron a partir de ligandos puros 4Br-TPP (**3a**) y TPP (**3e**). Sin embargo, no se pudo aislar 1Br-TPP (**3d**) puro, y sólo una pequeña cantidad de 2Br-TPP (**3c**) pudo obtenerse. Por eso, se juntaron las fracciones mayoritarias de cada ligando para sintetizar los complejos correspondientes: para Fe@2Br-TPP (**5c**) se usaron las fracciones 1 y 2 (16,8 mg, 85% **3c**) y para Fe@1Br-TPP (**5d**) las 4, 5 y 6 (45,9 mg, 77% **3d**).

Para la complejación se calentó a reflujo una disolución de porfirina (**3**) y FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (**4**) en exceso en DMF. La metodología utilizada (ver Parte experimental sección 2.5) está reportada solamente para la síntesis de Fe@TPP (**5e**)<sup>37</sup>, por lo que se usaron diferentes equivalentes de **4** para la formación del resto (2 para Fe@TPP (**5e**), 8 para Fe@4Br-TPP (**5a**) y 10 para Fe@1Br-TPP (**5d**) y Fe@2Br-TPP (**5c**)). Todos los compuestos se obtuvieron con un rendimiento satisfactorio (>70 %), exceptuando **5d**, cuyo rendimiento es muy bajo (21%) debido probablemente a errores en la purificación del complejo.



### 3.2.2. SEGUIMIENTO POR UV-VIS

Las reacciones se monitorizaron por UV-visible, obteniendo muestras de la reacción a distintos intervalos de tiempo, y se retiró el reflujó cuando se observó una desaparición casi total de dos bandas Q y el desplazamiento de las otras dos. Los espectros obtenidos se muestran en la Figura 16.

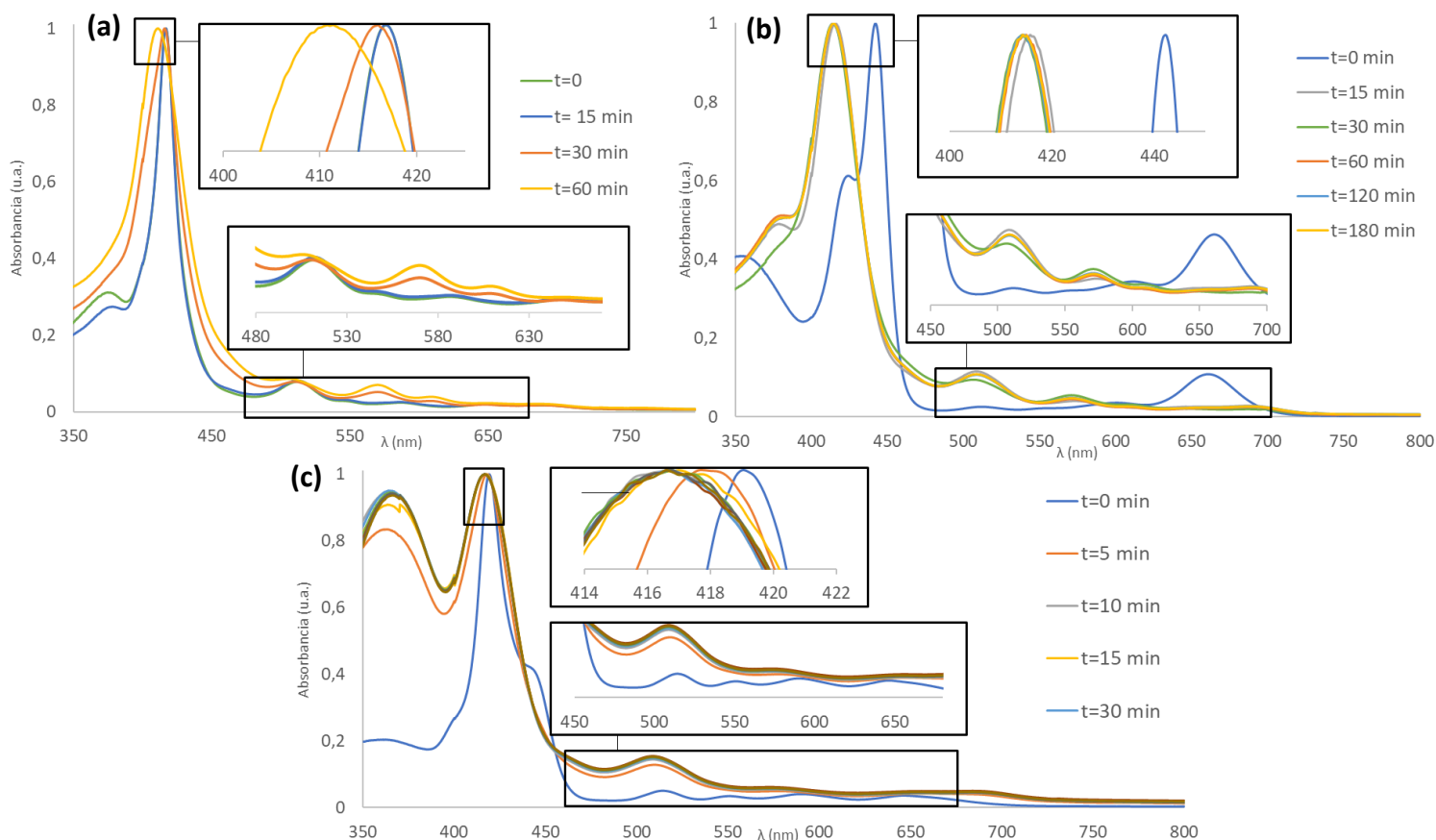


Figura 16. Seguimiento Síntesis complejos 5 por UV-vis (a) 5e (b) 5d (c) 5a

Como tendencia general, en todas se observa un desplazamiento de la banda Soret hacia longitudes de onda inferiores, y una desaparición casi total de dos de las bandas Q, lo que indica que la metalación se ha dado<sup>47</sup>.

Primero, se siguió la síntesis de **5e**, en la que se hicieron espectros cada 15 minutos. A partir de los 30 minutos (Figura 16a), aparecen las dos bandas características del complejo: una banda alrededor de 509 nm que coincide con la banda Q4 del ligando, y otra banda que aparece entre las bandas Q2 y Q3 del ligando (573 nm). Las bandas no desaparecieron por completo, pero se

dio por buena la metalación, ya que a los 60 minutos la banda Soret dejó de desplazarse . Estas bandas indican presencia de ligando libre y que no se metaló por completo.

Para intentar que la metalación fuera completa, se aumentó la cantidad de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**4**) hasta 10 equivalentes para la síntesis de **5d**. En este caso se observa un desplazamiento mucho mayor de la banda Soret (seguramente debido al exceso de hierro presente en la muestra, se desplazó mucho respecto al ligando correspondiente), y se observa claramente la metalación en las bandas Q, ya que a partir de los 30 minutos dos de ellas (Q3 y Q1) desaparecen casi por completo y su intensidad relativa al resto de bandas aumenta respecto al tiempo. A partir de los 60 minutos, las bandas se estabilizaron y prácticamente no progresó (Figura 16b). En la Figura 16b también se observa que en el espectro a  $t=0$  la banda mayor es la Q1, cuando en el espectro correspondiente al ligando libre **3d** no es así. Desafortunadamente, no se pudo determinar la causa de esta diferencia y se atribuyó a un error experimental durante la medición.

Todo esto indica que la mayor parte de la reacción se dio en los primeros minutos de reflujo, ya que en **5e** y **5d** los espectros se estabilizaron a partir del minuto 30. Con el objetivo de observar una progresión más clara y no tan repentina, se decidió recoger muestras más a menudo en los primeros 30 minutos de la síntesis de **5a** (8 equivalentes). Así, se ha podido observar una progresión mucho más clara de las bandas características (Figura 16c): en los primeros 15 minutos ocurre la mayor parte de la reacción, y a partir del minuto 30 los cambios en los desplazamientos y las intensidades relativas de las bandas Q son mínimos. Se dejó durante 3,5 h para comprobar si cambiaba algo más, y se hicieron espectros cada hora, pero como se observa en la Figura 16c, no se formó más complejo. También se observa una banda muy ancha por debajo de 400nm, lo que probablemente sea el exceso de hierro presente en la muestra (8 equivalentes). Sin embargo, en el resto de los complejos esta banda no se observa, debido a que este espectro (Figura 16c) se midió antes de la columna cromatográfica, y no se obtuvo ninguno del complejo tras la columna.

### 3.2.3. CARACTERIZACIÓN

Se han realizado espectros  $^1\text{H}$ -RMN y UV-Vis de los complejos sintetizados para poder compararlos con los de los ligandos libres y analizar los cambios ocurridos en el sistema durante la metalación.

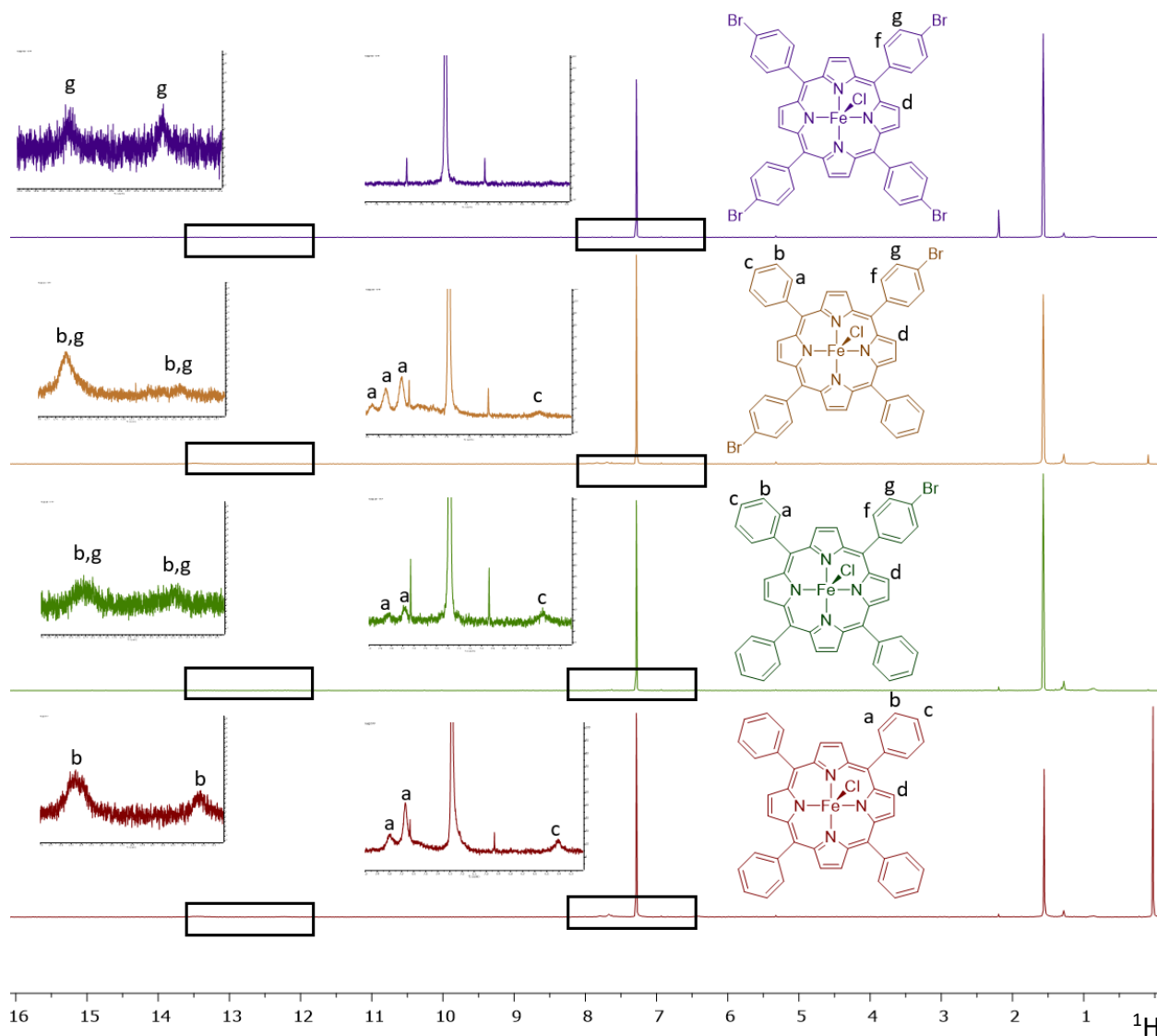


Figura 17. Espectros RMN de complejos (5) sintetizados: 5e (rojo), 5d (verde), 5c (naranja), 5a (morado)

En la Figura 17 se aprecia un cambio general en las señales: los picos se ensanchan, dando lugar a bandas, lo que dificulta mucho el cálculo de las integrales. Esto se debe al carácter paramagnético de Fe (III), que causa fluctuaciones en el campo magnético local debido a la densidad electrónica desapareada<sup>48</sup>. Ese efecto también provoca una magnificación en el

desapantallamiento del núcleo, lo que se traduce a un mayor desplazamiento en las señales de los protones cercanos a los bromos<sup>49,50</sup> (f,g) y al metal central (d,a,b).

Las señales asignadas para Fe@TPP (**5e**) coinciden con las de la literatura<sup>51</sup> encontrada: los protones en posiciones meta (b) y orto (a) aparecen como señales dobles. Esto ocurre porque el hierro central no está en el plano de la porfirina, sino un poco desplazado hacia el ligando axial (Cl<sup>-</sup>), lo que provoca que se diferencien las señales de los protones de los fenilos que están en planos distintos<sup>52</sup>. Los protones en posición para (c) solamente presentan una señal, ya que están todos en el mismo plano (espacialmente). Además, como son los más alejados del metal, su señal no tiene apenas desplazamiento respecto al ligando.

Para asignar las señales de **5a**, **5c** y **5d**, se dedujeron a partir de **5e**. Tanto **5a** como **5e** presentan las mismas dos señales correspondientes a los protones en meta (b), por lo que se ha asignado el protón de m-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Br (g) a esas mismas señales. Las señales de los protones en orto (a) se mantienen también en todos los espectros con fenilos monosustituídos, por lo que se ha asignado así en todos. En cuanto a los protones en p-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (c), se observa una disminución de la señal con el aumento de bromofenilos hasta desaparecer en **5a**, por lo que es seguro deducir que en los demás compuestos corresponde también a los mismos protones.

Sin embargo, debido probablemente al desplazamiento causado por el ion central, no se han podido asignar algunas señales: según la bibliografía<sup>51</sup> (encontrada solo para **5e**), las señales de los protones del pirrol en β (d) se desplazan a 80 ppm, pero no se ha podido confirmar ya que los espectros se han realizado entre 16 y -3 ppm. Lo mismo ocurre con las señales en posición o-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Br (f), que no se han podido asignar a ningún pico (probablemente estén desplazados a ppm mucho mayores por el efecto desapantallador del bromo).

Finalmente, se puede observar que en la región de o-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (a) en Fe@2Br-TPP aparecen 3 señales en lugar de 2. Se deduce de esto que puede haber una mezcla de isómeros cis y trans de **5c**.

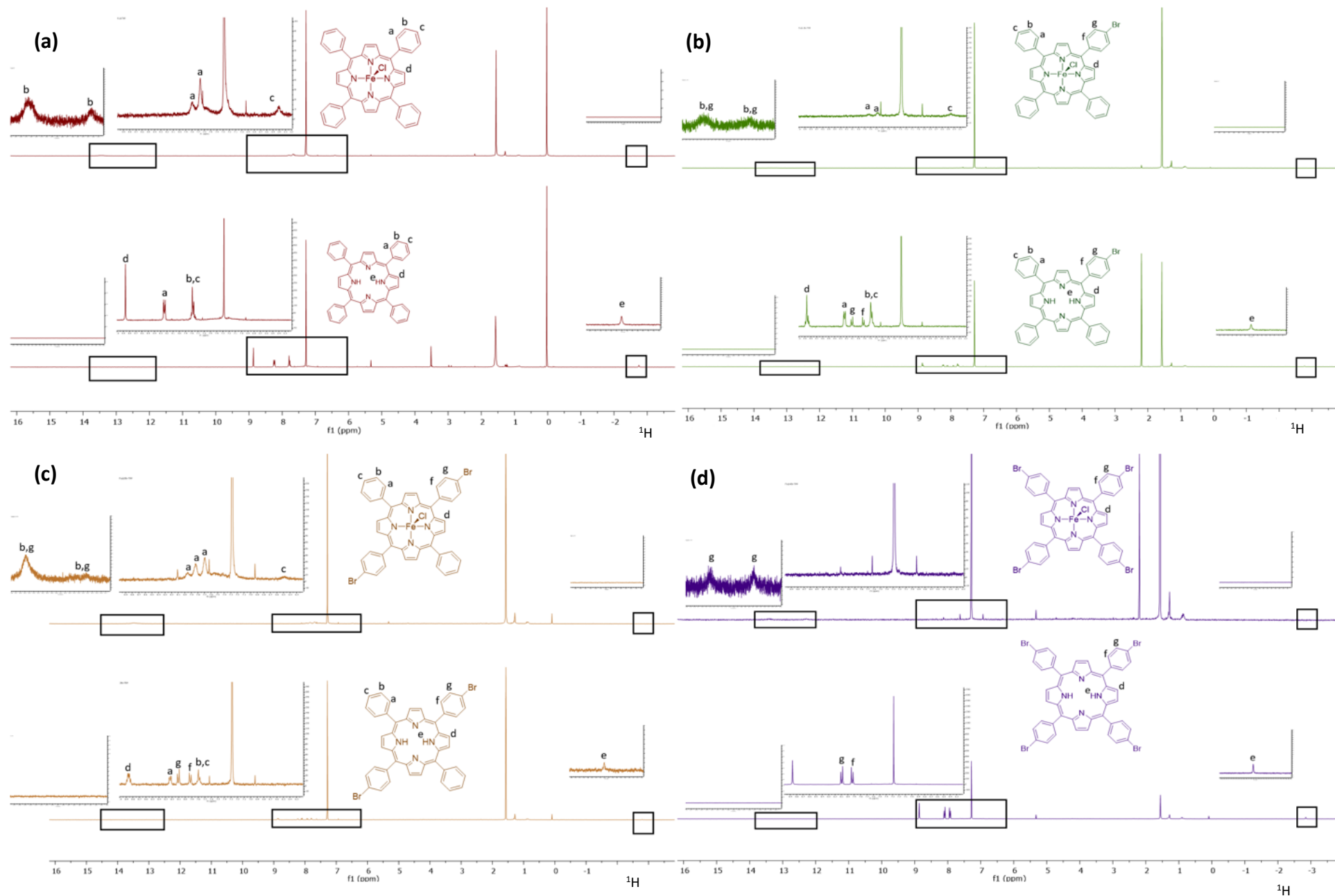


Figura 18.  $^1\text{H-NMR}$  de los ligandos 3 y complejos 5 (a) 3e y 5e (b) 3d y 5d (c) 3c y 5c (d) 3a y 5a

Para confirmar la presencia de complejo, se comparan los espectros de los ligandos y los complejos correspondientes (Figura 18). Esta presencia se puede confirmar principalmente con la desaparición de la banda correspondiente a los protones de las aminas (e), porque al introducirse el hierro, la porfirina disocia esos dos protones. Como se puede ver, la señal de estos protones no aparece en los RMN de los complejos, y ese es el principal indicio de que se ha formado complejo.

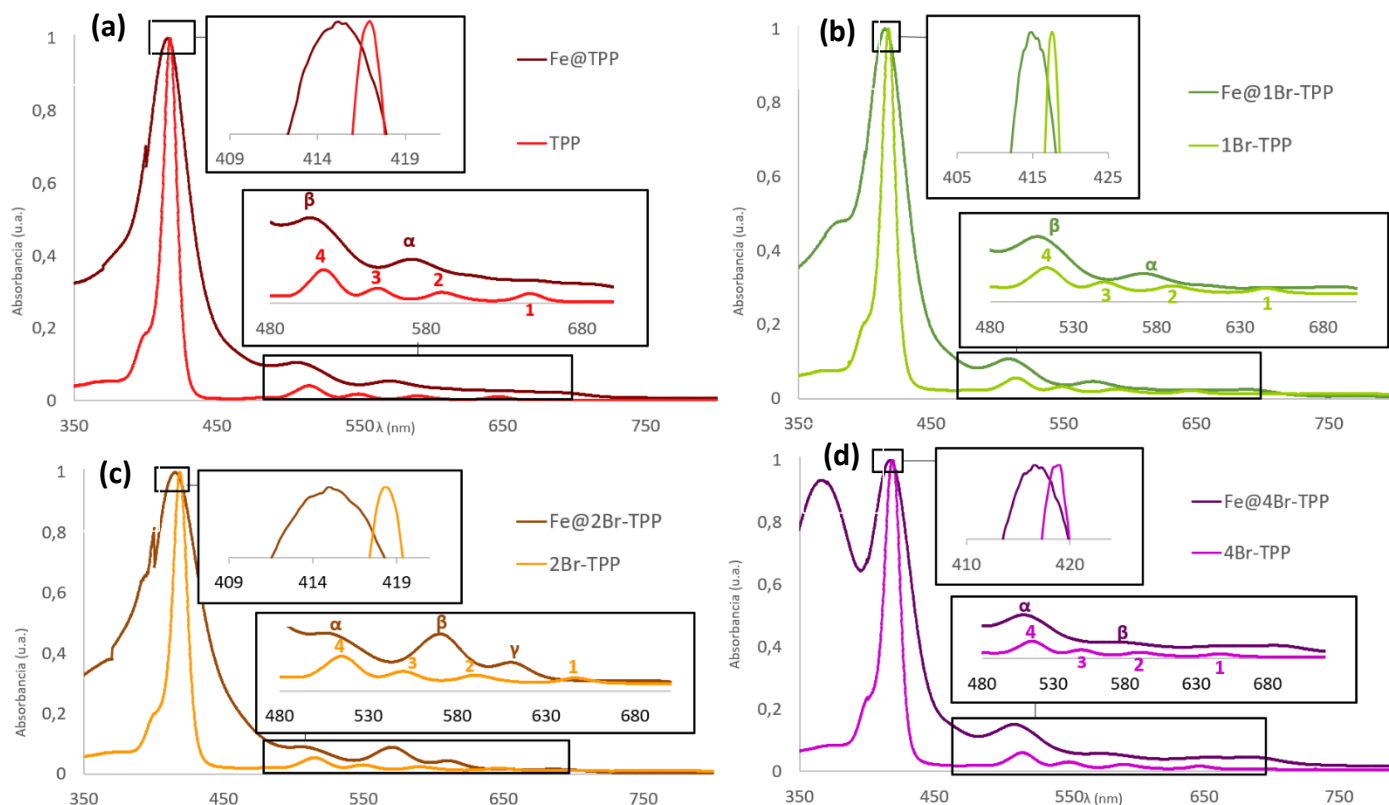


Figura 19. Espectros UV-Vis normalizados de complejos 5 y ligandos 3 superpuestos (a) 3e y 5e (b) 3d y 5d (c) 3c y 5c (d) 3a y 5a

Tabla 12. Señales características de los espectros UV-Vis de los compuestos sintetizados

| Compuesto       | $\lambda$ Banda Soret (nm) | $\lambda$ Bandas Q (nm) |     |     |     |
|-----------------|----------------------------|-------------------------|-----|-----|-----|
| TPP (3e)        | 417                        | 514                     | 549 | 590 | 646 |
| Fe@TPP (5e)     | 415                        | 506                     |     | 571 |     |
| 1Br-TPP (3d)    | 418                        | 514                     | 548 | 589 | 646 |
| Fe@1Br-TPP (5d) | 415                        | 508                     |     | 572 |     |
| 2Br-TPP (3c)    | 418                        | 515                     | 549 | 589 | 647 |
| Fe@2Br-TPP(5c)  | 415                        | 506                     |     | 570 | 609 |
| 4Br-TPP (3a)    | 419                        | 515                     | 550 | 589 | 646 |
| Fe@4Br-TPP (5a) | 417                        | 509                     |     | 573 |     |

Al comparar los espectros de los ligandos **3** y los correspondientes complejos **5** (Figura 19 y Tabla 12), se observan diferencias claras: las 4 bandas Q características de las porfirinas son remplazadas por dos bandas Q ( $\alpha$  y  $\beta$ ). Esto ocurre porque cuando se introduce el ion metálico, la simetría del ligando (lineal,  $d_{2h}$ ) cambia a pirámide de base cuadrada ( $C_{4v}$ ), lo que aumenta la simetría del compuesto y causa una degeneración en los orbitales implicados en las transiciones, haciendo que las dos transiciones correspondientes a las bandas Q sean equivalentes<sup>53</sup> (Figura 20).

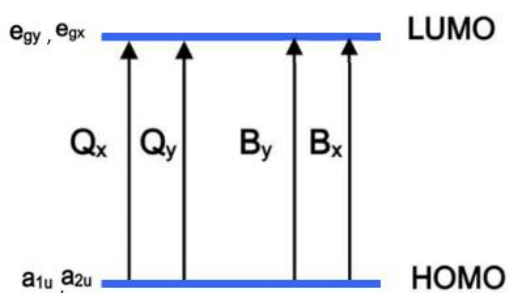
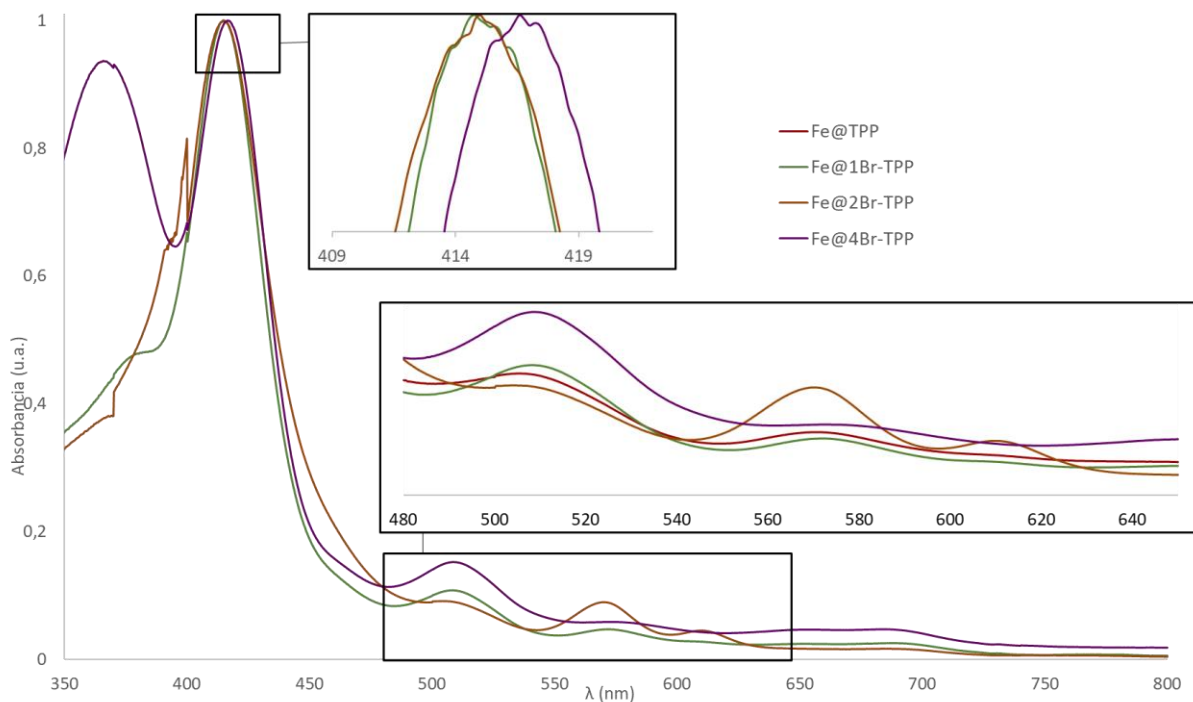


Figura 20. Transiciones HOMO-LUMO de complejos

Otra de las diferencias en los espectros es que ocurre un desplazamiento general de las bandas hacia longitudes de onda inferiores (desplazamiento batocrómico): en la banda Soret, el desplazamiento es de unos pocos nm, pero en las bandas Q es mucho más notable, ya que las bandas  $Q_4$  y  $Q_2$  del ligando, (que corresponden a  $Q_\alpha$  y  $Q_\beta$ , respectivamente) se desplazan entre 6 y 19 nm. Este efecto se debe a que los orbitales  $e_g$  del Fe (III) ocupan una posición energética tal que provoca el solapamiento de estos con los orbitales LUMO de la porfirina (que son de la misma simetría  $e_g$ ). Este solapamiento aumenta la repulsión de los orbitales del ligando, aumentando la diferencia de energía entre HOMO y LUMO y, por lo tanto, disminuyendo la longitud de onda de estas transiciones<sup>54</sup>. Por ello en las figuras mostradas aparece un ligero desplazamiento en la banda Soret, causado por efecto del metal, que ha sido prácticamente igual en todos (-2 o -3 nm).

Además, debido a la configuración electrónica de Fe (III) ( $d^5$ ), sus orbitales d están semillenos, y esto, sumado a la posición energética de los orbitales, permite transferencias de carga del ligando al metal (LMCT)<sup>54</sup>. Estas bandas se aprecian en los espectros de los complejos y aparecen sobre todo en la región UV-Vis (< 400 nm, por debajo de la banda Soret).



**Figura 21. Espectros UV-Vis normalizados de complejos 5e (rojo), 5d (verde), 5c (naranja) y 5a (morado)**

En la Figura 21 se muestran los UV-vis de los complejos comparados entre sí. Al compararlos con los espectros de los ligandos (Figura 14), se puede ver que el efecto batocrómico del bromo sigue estando presente, ya que al aumentar la cantidad de bromofenilos, se aprecia un desplazamiento de las bandas Soret (de 415 nm (**5e**) a 417 nm (**5a**)) y Q (de 506 y 571 nm (**5e**) a 509 y 573 nm (**5a**)). Por otro lado, se aprecia una progresión en el desplazamiento de las bandas Q entre el ligando y el complejo, en el que el desplazamiento entre las bandas  $Q_4 - Q_\alpha$  y las bandas  $Q_2 - Q_\beta$  es máximo en los compuestos sin bromos **3e** y **5e** (-8 nm y -19 nm) y mínimo en **3a** y **5a** (-6 nm y -16 nm). Esto ocurre por el efecto del bromo, que aumenta la densidad electrónica del compuesto (ver Resultados y Discusión sección 3.1.3).

En el espectro correspondiente a Fe@2Br-TPP (Figura 21) hay 3 bandas Q en lugar de 2 como en todas las demás. Esto podría ser por la formación de una mezcla de isómeros cis y trans de este compuesto (como también se observa en el RMN de la Figura 17) que tienen transiciones de diferente energía. Otra posibilidad es que haya una mezcla de porfirinas, ya que la fracción usada para sintetizar el complejo **5c** no era 100% **3c**. Sin embargo, el resto de las bandas coinciden con una metaloporfirina, por lo que se podría confirmar su presencia.



### 3.3. CATÁLISIS

Se analizó la capacidad catalítica de cada complejo analizando su habilidad de reducir de cetonas a alcoholes. Para ello se decidió usar acetofenona, como sustrato estándar utilizado para estudiar las catálisis de transferencia de hidrógenos.

Primero se siguió el procedimiento descrito en el Procedimiento 1 de Catálisis (ver Parte experimental sección 2.7.1)<sup>55</sup>, que es específico para otros compuestos que catalizan esta reacción. Al verificar por RMN, se obtuvo una conversión de <1%, lo que indicó que no funcionó con las condiciones indicadas. La misma reacción se volvió a intentar el procedimiento, esta vez utilizando un 25% de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> como base en lugar de óxido de trimetilamina (ya que las bases orgánicas no son capaces de eliminar el ligando axial Cl<sup>-</sup> y dar comienzo al ciclo catalítico) y con un menor porcentaje de catalizador (0,5 %), que es lo que se utiliza en la mayoría de los procedimientos reportados<sup>32,56</sup>. Al verificar por RMN, se obtuvo una conversión de 2%.

Tras estos dos procedimientos fallidos, se concluyó que los complejos sintetizados no estaban bien en el momento de utilizarlos como catalizadores. Esto se puede deber a un desplazamiento del ligando axial Cl<sup>-</sup> durante la purificación del crudo de la reacción: el agua utilizada en el lavado y el metanol utilizado en la columna pueden haberse coordinado, desplazando al Cl<sup>-</sup>. Estos compuestos forman enlaces muy fuertes con el metal e impiden la reducción a especies de Fe(II)<sup>57</sup>. Además, no se ha tenido en cuenta que para formar esta especie de Fe(II) y que la catálisis funcione, normalmente es necesario añadir un reductor (NaBH<sub>4</sub>, por ejemplo)<sup>57</sup>.

Para intentar obtener conversiones aceptables, se siguió la metodología descrita en el Procedimiento 2 de Catálisis<sup>32</sup>, que consiste en formar el catalizador *in situ* y añadir la base y el sustrato después. Se decidieron utilizar los reactivos óptimos indicados en la bibliografía: 50% de base (NaOH, usada por su solubilidad en 2-propanol) y 1% de catalizador *in situ*. Al verificar por RMN, se obtuvieron conversiones muy satisfactorias indicadas en la Tabla 13.

Tabla 13. Conversiones obtenidas en Procedimiento 2 de Catálisis

| Ligando      | Complejo <i>in situ</i> esperado | Conversión   | TON   | TOF Relativo (h <sup>-1</sup> ) |
|--------------|----------------------------------|--------------|-------|---------------------------------|
| TPP (3e)     | Fe@TPP (5e)                      | 96,6 ± 0,8 % | 193,2 | 35,5                            |
| 1Br-TPP (3d) | Fe@1Br-TPP (5d)                  | 98,3 ± 0,6 % | 196,6 | 28,1                            |
| 2Br-TPP (3c) | Fe@2Br-TPP (5c)                  | 98,2 ± 0,4 % | 196,4 | 28,1                            |
| 4Br-TPP (3a) | Fe@4Br-TPP (5a)                  | 95,9 ± 0,1 % | 191,8 | 27,4                            |

Durante la catálisis no fue posible caracterizar el catalizador, ya que era imposible aislarlo y la cantidad de ligando usada no era suficientemente grande como para realizar la catálisis y caracterizar (menos de 5 mg en todos los casos). Sin embargo, todo indica que los catalizadores formados son equivalentes a los sintetizados anteriormente, con la diferencia de que el catión central inicialmente es Fe(II), y que al encontrarse ya en un ambiente inerte, no aparecen los problemas de degradación mencionados anteriormente.

Para todos los complejos, las conversiones son >95 %, y en todos los casos se ha dado una reducción casi completa. Estos resultados son satisfactorios, pero no aportan ninguna información para poder evaluar la influencia de la cantidad de sustituyentes de bromo. Para poder comparar los catalizadores entre sí, se debió de haber probado la misma reacción durante menos tiempo, ya que en 5,5 h no se pudieron obtener conversiones comparables. Esto no se realizó por falta de tiempo.

## 5. CONCLUSIONES

Se pudo optimizar la síntesis y la purificación de los ligandos y dar con un procedimiento en el que se obtuvieron los ligandos TPP (**3e**), 1Br-TPP (**3d**), 2Br-TPP (**3c**) y 4Br-TPP (**3a**) puros y en cantidades suficientes para confirmar su pureza por caracterización y poder sintetizar los complejos correspondientes.

Se obtuvieron los complejos Fe@TPP (**5e**), Fe@1Br-TPP (**5d**), Fe@2Br-TPP (**5c**) y Fe@4Br-TPP (**5e**), aunque no se pudo confirmar la pureza del ligando **5c**, que parece contener una mezcla de isómeros. Los rendimientos obtenidos no fueron cuantitativos, por lo que se podría optimizar aún más este procedimiento.

Sin embargo, estos complejos no mostraban actividad catalítica para la reducción de acetofenona, por lo que se podrían buscar otros procedimientos de catálisis con condiciones diferentes en la que estos catalizadores pudieran funcionar.

Los catalizadores formados *in situ* sí mostraban buena actividad catalítica para la reducción de acetofenona, y se obtuvieron conversiones muy altas en todos los casos. Para obtener datos más comparables, se debió haber realizado el mismo procedimiento durante menos tiempo, para evaluar la aparición de diferencias significativas en los parámetros de actividad catalítica.

A falta de pruebas adicionales que puedan demostrar lo contrario, se concluye que la sustitución de bromos no tiene ningún efecto significativo en la actividad catalítica de los complejos halogenados, por lo que los catalizadores de tipo porfirina halogenados podrían ser buenos candidatos para la reducción de cetonas intracelular y el seguimiento de su estabilidad por métodos analíticos, para su posterior uso como agentes terapéuticos contra la hiperglucemia y la hipercolesterolemia.

## 5. CONCLUSIONS

It was possible to optimize the synthesis and the purification of the ligands and to come up with a procedure in which the TPP (**3e**), 1Br-TPP (**3d**), 2Br-TPP (**3c**) and 4Br-TPP (**3a**) ligands were obtained pure and in sufficient quantities to confirm their purity by characterization and to be able to synthesize the corresponding complexes.

The complexes Fe@TPP (**5e**), Fe@1Br-TPP (**5d**), Fe@2Br-TPP (**5c**) and Fe@4Br-TPP (**5a**) were obtained, although the purity of ligand **5c**, which appeared to contain a mixture of isomers, could not be confirmed. The yields obtained were not quantitative, so this procedure could be further optimized.

However, these complexes did not show any catalytic activity for the reduction of acetophenone, so other catalysis procedures with different conditions could be sought in which these catalysts could work.

The catalysts formed *in situ* did show good catalytic activity for acetophenone reduction, and very high conversions were obtained in all cases. To obtain more comparable data, the same procedure should have been carried out for shorter times to evaluate the occurrence of significant differences in the catalytic activity parameters.

In the absence of further evidence, it is concluded that bromine substitution has no significant effect on the catalytic activity of halogenated complexes, so that halogenated porphyrin-type catalysts could be good candidates for the reduction of intracellular ketones and monitoring of their stability by analytical methods, for subsequent use as therapeutic agents against hyperglycemia and hypercholesterolemia.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Anthony, E. J.; Bolitho, E. M.; Bridgewater, H. E.; Carter, O. W. L.; Donnelly, J. M.; Imberti, C.; Lant, E. C.; Lermyte, F.; Needham, R. J.; Palau, M.; Sadler, P. J.; Shi, H.; Wang, F.-X.; Zhang, W.-Y.; Zhang, Z. Metallodrugs Are Unique: Opportunities and Challenges of Discovery and Development. *Chem Sci* **2020**, *11* (48), 12888–12917. <https://doi.org/10.1039/D0SC04082G>.
- (2) Zhang, C.; Xu, C.; Gao, X.; Yao, Q. Platinum-Based Drugs for Cancer Therapy and Anti-Tumor Strategies. *Theranostics* **2022**, *12* (5), 2115. <https://doi.org/10.7150/THNO.69424>.
- (3) Jia, S.; Wang, R.; Wu, K.; Jiang, H.; Du, Z. Molecules Elucidation of the Mechanism of Action for Metal Based Anticancer Drugs by Mass Spectrometry-Based Quantitative Proteomics. **2019**. <https://doi.org/10.3390/molecules24030581>.
- (4) Soldevila-Barreda, J. J.; Metzler-Nolte, N. Intracellular Catalysis with Selected Metal Complexes and Metallic Nanoparticles: Advances toward the Development of Catalytic Metallodrugs. *Chemical Reviews*. American Chemical Society January 23, 2019, pp 829–869. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00493>.
- (5) Yu, Z.; Cowan, J. A. Catalytic Metallodrugs: Substrate-Selective Metal Catalysts as Therapeutics. *Chemistry - A European Journal*. Wiley-VCH Verlag October 12, **2017**, pp 14113–14127. <https://doi.org/10.1002/chem.201701714>.
- (6) Bradford, S. S.; Cowan, J. A. From Traditional Drug Design to Catalytic Metallodrugs: A Brief History of the Use of Metals in Medicine. *Metallodrugs* **2015**, *1* (1). <https://doi.org/10.2478/medr-2014-0002>.
- (7) Pei, E.; Ang, L. Transfer Hydrogenation: Employing a Simple, in Situ Prepared Catalytic System, Ph.D. Thesis, Saudi Arabia, 2017.
- (8) Fujii, A.; Hashiguchi, S.; Uematsu, N.; Ikariya, T.; Noyori, R. *Ruthenium(II)-Catalyzed Asymmetric Transfer Hydrogenation of Ketones Using a Formic Acid-Triethylamine Mixture*; 1991; Vol. 34.
- (9) Wang, D.; Astruc, D. The Golden Age of Transfer Hydrogenation. *Chemical Reviews*. American Chemical Society, **2015**, pp 6621–6686. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00203>.
- (10) Andersson, P. G. .; Munslow, I. J. *Modern Reduction Methods*; Wiley-VCH, 2008.
- (11) Abubakar, S.; Bala, M. D. Transfer Hydrogenation of Ketones Catalyzed by Symmetric Imino-N-Heterocyclic Carbene Co(III) Complexes. *ACS Omega* **2020**, *5* (6), 2670–2679. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03181>.
- (12) Clapham, S. E.; Hadzovic, A.; Morris, R. H. Mechanisms of the H<sub>2</sub>-Hydrogenation and Transfer Hydrogenation of Polar Bonds Catalyzed by Ruthenium Hydride Complexes. *Coordination Chemistry Reviews*. December **2004**, pp 2201–2237. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2004.04.007>.
- (13) Conley, B. L.; Pennington-Boggio, M. K.; Boz, E.; Williams, T. J. Discovery, Applications, and Catalytic Mechanisms of Shvos Catalyst. *Chem Rev* **2010**, *110* (4), 2294–2312. <https://doi.org/10.1021/cr9003133>.
- (14) Gębicki, J.; Marcinek, A.; Zielonka, J. Transient Species in the Stepwise Interconversion of NADH and NAD<sup>+</sup>. *Accounts of Chemical Research*. June **2004**, pp 379–386. <https://doi.org/10.1021/ar030171j>.

- (15) Banerjee, S.; Sadler, P. J. Transfer Hydrogenation Catalysis in Cells. *RSC Chemical Biology*. Royal Society of Chemistry **2021**, pp 12–29. <https://doi.org/10.1039/d0cb00150c>.
- (16) Gray, L. R.; Tompkins, S. C.; Taylor, E. B. Regulation of Pyruvate Metabolism and Human Disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*. Birkhauser Verlag AG July 1, **2014**, pp 2577–2604. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1539-2>.
- (17) Shi, L.; Tu, B. P. Acetyl-CoA and the Regulation of Metabolism: Mechanisms and Consequences. *Current Opinion in Cell Biology*. Elsevier Ltd April 1, **2015**, pp 125–131. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.02.003>.
- (18) Dhillon, K. K.; Gupta, S. *Biochemistry, Ketogenesis*. Statpearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493179/> (accessed 2023-08-26).
- (19) Laffel, L. Ketone Bodies: A Review of Physiology, Pathophysiology and Application of Monitoring to Diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* **1999**, *15* (6), 412–426. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-7560\(199911/12\)15:6<412::AID-DMRR72>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-7560(199911/12)15:6<412::AID-DMRR72>3.0.CO;2-8).
- (20) Silva, P. *A general overview of the major metabolic pathways*. <http://homepage.ufp.pt/pedros/bq/integration.htm> (accessed 2023-08-26).
- (21) Trapani, L.; Segatto, M.; Pallottini, V. Regulation and Deregulation of Cholesterol Homeostasis: The Liver as a Metabolic “Power Station.” *World J Hepatol* **2012**, *4* (6), 184–190. <https://doi.org/10.4254/wjh.v4.i6.184>.
- (22) Lund, J.; Ouwens, D. M.; Wettergreen, M.; Bakke, S. S.; Thoresen, G. H.; Aas, V. Increased Glycolysis and Higher Lactate Production in Hyperglycemic Myotubes. *Cells* **2019**, *8* (9), 1101. <https://doi.org/10.3390/cells8091101>.
- (23) Roche. *Metabolic Pathways map*.
- (24) Dapperheld, S.; Steckhan, E.; Brinkhaus, K. G.; Esch, T. Organic Electron Transfer Systems, II Substituted Triarylamine Cation-Radical Redox Systems – Synthesis, Electrochemical and Spectroscopic Properties, Hammet Behavior, and Suitability as Redox Catalysts. *Chem Ber* **1991**, *124* (11), 2557–2567. <https://doi.org/10.1002/cber.19911241127>.
- (25) Soldevila-Barreda, J. J.; Habtemariam, A.; Romero-Canelón, I.; Sadler, P. J. Half-Sandwich Rhodium(III) Transfer Hydrogenation Catalysts: Reduction of NAD<sup>+</sup> and Pyruvate, and Antiproliferative Activity. *J Inorg Biochem* **2015**, *153*, 322–333. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.10.008>.
- (26) Coverdale, J. P. C.; Sanchez-Cano, C.; Clarkson, G. J.; Soni, R.; Wills, M.; Sadler, P. J. Easy to Synthesize, Robust Organo-Osmium Asymmetric Transfer Hydrogenation Catalysts. *Chemistry - A European Journal* **2015**, *21* (22), 8043–8046. <https://doi.org/10.1002/chem.201500534>.
- (27) Coverdale, J. P. C.; Romero-Canelón, I.; Sanchez-Cano, C.; Clarkson, G. J.; Habtemariam, A.; Wills, M.; Sadler, P. J. Asymmetric Transfer Hydrogenation by Synthetic Catalysts in Cancer Cells. *Nat Chem* **2018**, *10* (3), 347–354. <https://doi.org/10.1038/nchem.2918>.
- (28) James, C. C.; de Bruin, B.; Reek, J. Transition Metal Catalysis in Living Cells: Progress, Challenges, and Novel Supramolecular Solutions. *Angewandte Chemie International Edition* **2023**. <https://doi.org/10.1002/anie.202306645>.
- (29) Crabtree, R. H. Deactivation in Homogeneous Transition Metal Catalysis: Causes, Avoidance, and Cure. *Chemical Reviews*. American Chemical Society January 14, **2015**, pp 127–150. <https://doi.org/10.1021/cr5004375>.

- (30) Bolitho, E. M.; Coverdale, J. P. C.; Bridgewater, H. E.; Clarkson, G. J.; Quinn, P. D.; Sanchez-Cano, C.; Sadler, P. J. Tracking Reactions of Asymmetric Organo-Osmium Transfer Hydrogenation Catalysts in Cancer Cells. *Angewandte Chemie - International Edition* **2021**, *60* (12), 6462–6472. <https://doi.org/10.1002/anie.202016456>.
- (31) Wallace, D. F. *Regulation of Iron Homeostasis*; **2016**; Vol. 37.
- (32) Enthaler, S.; Erre, G.; Tse, M. K.; Junge, K.; Beller, M. Biomimetic Transfer Hydrogenation of Ketones with Iron Porphyrin Catalysts. *Tetrahedron Lett* **2006**, *47* (46), 8095–8099. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.09.058>.
- (33) Sasmal, P. K.; Carregal-Romero, S.; Han, A. A.; Streu, C. N.; Lin, Z.; Namikawa, K.; Elliott, S. L.; Köster, R. W.; Parak, W. J.; Meggers, E. Catalytic Azide Reduction in Biological Environments. *ChemBioChem* **2012**, *13* (8), 1116–1120. <https://doi.org/10.1002/cbic.201100719>.
- (34) Matamala-Cea, E.; Valenzuela-Godoy, F.; González, D.; Arancibia, R.; Dorcet, V.; Hamon, J. R.; Novoa, N. Efficient Preparation of 5,10,15,20-Tetrakis(4-Bromophenyl)Porphyrin. Microwave Assisted v/s Conventional Synthetic Method, X-Ray and Hirshfeld Surface Structural Analysis. *J Mol Struct* **2020**, *1201*. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127139>.
- (35) Al Neyadi, S. S.; Alzamly, A.; Al-Hemyari, A.; Tahir, I. M.; Al-Meqbali, S.; Ahmad, M. A. A.; Bufaroosha, M. An Undergraduate Experiment Using Microwave-Assisted Synthesis of Metalloporphyrins: Characterization and Spectroscopic Investigations. *World Journal of Chemical Education* **2019**, *7* (1), 26–32. <https://doi.org/10.12691/wjce-7-1-4>.
- (36) Mondal, S.; Pain, T.; Sahu, K.; Kar, S. Large-Scale Green Synthesis of Porphyrins. *ACS Omega* **2021**, *6* (35), 22922–22936. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03534>.
- (37) *Microscale Preparation of Meso-Tetraphenylporphyrin and Its Fe(III) Complex 1.*
- (38) Yu, Q.; Xu, W. X.; Yao, Y. H.; Zhang, Z. Q.; Sun, S.; Li, J. Synthesis and Photodynamic Activities of a New Metronidazole-Appended Porphyrin and Its Zn(II) Complex. *J Porphyr Phthalocyanines* **2015**, *19* (10), 1107–1113. <https://doi.org/10.1142/S1088424615500868>.
- (39) Nielsen, C. B.; Krebs, F. C. Aspects of Investigating Scrambling in the Synthesis of Porphyrins: Different Analytical Methods. *Tetrahedron Lett* **2005**, *46* (35), 5935–5939. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.06.123>.
- (40) Li, M.; Huang, R.; Wu, C.; Zuo, H.; Lai, G.; Shen, Y. Synthesis and Properties of Tetrathiafulvalene-Porphyrin Assemblies. *Front Chem Sci Eng* **2011**, *5* (4), 422–428. <https://doi.org/10.1007/s11705-011-1124-x>.
- (41) Gouterman, M. Spectra of Porphyrins. *J Mol Spectrosc* **1961**, *6*, 138–163. [https://doi.org/10.1016/0022-2852\(61\)90236-3](https://doi.org/10.1016/0022-2852(61)90236-3).
- (42) Giovannetti, R. *The Use of Spectrophotometry UV-Vis for the Study of Porphyrins*. [www.intechopen.com](http://www.intechopen.com).
- (43) Zakavi, S.; Gharab, N. G. Interaction of Para-Substituted Meso-Tetraphenylporphyrins and Meso-Tetra(n-Propyl)Porphyrin with Weak and Strong Carboxylic Acids: A UV-Vis Spectroscopic Study. *Polyhedron* **2007**, *26* (12), 2425–2432. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2006.12.030>.
- (44) Giovannetti, R. *The Use of Spectrophotometry UV-Vis for the Study of Porphyrins*. [www.intechopen.com](http://www.intechopen.com).

- (45) Temelli, B.; Unaleroglu, C. Synthesis of Meso-Tetraphenyl Porphyrins via Condensation of Dipyrromethanes with N-Tosyl Imines. *Tetrahedron* **2009**, *65* (10), 2043–2050. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2009.01.009>.
- (46) Dehghani, H.; Farshchian, M. Molecular Interaction between Free Base Meso-Tetraarylporphyrins and o-Chloranil. *J Heterocycl Chem* **2009**, *46* (4), 610–615. <https://doi.org/10.1002/jhet.91>.
- (47) Kechiche, A.; Fradi, T.; Noureddine, O.; Guergueb, M.; Loiseau, F.; Guerineau, V.; Issoui, N.; Bessmertnykh-Lemeune, A. G.; Nasri, H.; Lemeune, A. Characterization and Catalytic Studies of Chromium(III) Porphyrin Complex with Axial Cyanate Ligands. *J Mol Struct*, In press, <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131801>.
- (48) Mao, J.; Zhang, Y.; Oldfield, E. Nuclear Magnetic Resonance Shifts in Paramagnetic Metalloporphyrins and Metalloproteins. *J Am Chem Soc* **2002**, *124* (46), 13911–13920. <https://doi.org/10.1021/ja020297w>.
- (49) University of Illinois Urbana-Champaign. *Paramagnetic RMN*. <http://xuv.scs.illinois.edu/516/lectures/chem516.11.pdf> (accessed 28/08/23)
- (50) Walker, F. A. *NMR and EPR Spectroscopy of Paramagnetic Metalloporphyrins and Heme Proteins*. www.worldscientific.com.
- (51) Chiniforoshan, H.; Safari, N.; Nezhad, J. M.; Hadadzadeh, H.; Mahmoudkhani, A. H. Synthesis and Characterization of Tetraphenylporphyrin Iron(III) Complexes with Substituted Phenylcyanamide Ligands. *Inorganica Chim Acta* **2006**, *359* (7), 2101–2106. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2006.01.015>.
- (52) Woon, T. C.; Shirazi, A.; Bruce, T. C. <sup>1</sup>H NMR Investigation of Iron(III) 5,10,15,20-Tetrakis(2,6-Disubstituted Phenyl)Porphyrins. Isolation and Characterization of Hydroxy-Ligated (5,10,15,20-Tetrakis( 2,6-Difluorophenyl)Porphinato)Iron(III). *Inorg Chem* **1986**, No. 25, 3845–3846.
- (53) Haina, W. Synthesis, Purification and Characterization of Tetraphenylporphyrin and Its Fe(III) and Zn(II) Complexes. Description of Water's PES Using Bayesian Statistics View Project. **2017**. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.22381.18407>.
- (54) Rezazgui, O. Towards a Bio-Inspired Photoherbicide: Synthesis and Studies of Fluorescent Tagged or Water-Soluble Porphyrins, from Solution to Plant Cells, Ph.D. University of Limoges, **2015**.
- (55) Funk, T. W.; Mahoney, A. R.; Sponenburg, R. A.; Zimmerman, K. P.; Kim, D. K.; Harrison, E. E. Synthesis and Catalytic Activity of (3,4-Diphenylcyclopentadienone)Iron Tricarbonyl Compounds in Transfer Hydrogenations and Dehydrogenations. *Organometallics* **2018**, *37* (7), 1133–1140. <https://doi.org/10.1021/acs.organomet.8b00037>.
- (56) Enthaler, S.; Spilker, B.; Erre, G.; Junge, K.; Tse, M. K.; Beller, M. Biomimetic Transfer Hydrogenation of 2-Alkoxy- and 2-Aryloxyketones with Iron–Porphyrin Catalysts. *Tetrahedron* **2008**, *64* (17), 3867–3876. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.01.083>.
- (57) Sakaki, S.; Kojima, T.; Arai, T. *Hydrogenation Catalysis by an Iron Porphyrin and Its Application to Unsaturated Esters*; 1994.



